# CENTRALBLATT

für

# Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

---

**Erste Abteilung. XXXIII. Band.**

## Originale.

# CENTRALBLATT
für
# Bakteriologie, Parasitenkunde
## und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

**Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler**
in Greifswald,

**Professor Dr. R. Pfeiffer**
in Königsberg

und

**Staatsrat Professor Dr. M. Braun**
in Königsberg

herausgegeben von

**Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.**

**Erste Abteilung. XXXIII. Band.**

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

## Originale.

**Mit 10 Tafeln und 53 Abbildungen im Texte.**

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1903.

# CENTRALBLATT
für
# Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

## Erste Abteilung:
## Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde

# Originale

In Verbindung mit
**Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler,** Greifswald, **Prof. Dr. R. Pfeiffer, Prof. Dr. M. Braun** Königsberg i. Pr.
herausgegeben von
**Dr. O. Uhlworm in Berlin W.,** Schaperstr. 2/3 I

**Verlag von Gustav Fischer in Jena**

**XXXIII. Band.** — Jena, den 22. Dezember 1902. — **No. 1.**

**Preis für den Band (50 Bogen) 15 Mark. Schwierige Tafeln werden einem Bogen gleich gerechnet. — Die Nummern erscheinen zwanglos je nach dem vorliegenden Stoffe. Bei Einzelverkauf Preis für einen einfachen Druckbogen 40 Pfg., für eine Tafel 60 Pfg.**

*Hierzu als regelmäſsige Beilage die Inhaltsübersichten der II. Abteilung des Centralblattes.*

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

## Original-Mitteilungen.



# Untersuchungen über Sarcina, Streptococcus und Spirillum.

[Arbeit aus dem Botanischen Institut zu Marburg.]

Von **David Ellis,** B. Sc. (London) aus Aberystwyth, Wales.

Mit 2 Tafeln.

Herr Prof. Arthur Meyer veranlaßte mich zur Untersuchung der von Herrn Prof. Beijerinck aufgefundenen Sarcina ureae vorzüglich deshalb, weil es bisher noch nicht sicher feststand, inwieweit diese Gattung mit der Gattung Bacillus, welche man als eine typische Bakteriengattung betrachten darf, prinzipiell übereinstimmt. Das Material von Sarcina ureae stammte von einer Kultur, welche Herr Prof. Beijerinck in freundlicher Weise Herrn Prof. Meyer übersandt hatte.

Ich habe die Untersuchung nach den Methoden und unter Leitung des Herrn Prof. Meyer im Laboratorium des botanischen Instituts aus-

geführt. Ich wollte auch die Gattungen Streptococcus und Spirillum in gleicher Weise untersuchen, doch gelang es mir nicht, eine sporenbildende Species dieser Gattungen zu fangen, so daß ich mich begnügen mußte, die Oidien derselben zu untersuchen.

## Ueber Sarcina ureae (Beijerinck).

### Die Gattung Sarcina.

Der Name Sarcina stammt von Goodsir her, der im Jahre 1842 die Species Sarcina ventriculi auffand.

Von Cohn (1875) wird die Gattung Sarcina unter den Gleogenae angeführt, deren Zellen zu Schleimfamilien vereinigt sein sollen, und folgendermaßen charakterisiert: „Zellen kugelig, quaternär geordnet, farblos.“

Winter (1881) ordnete die Sarcina unter die Bakterien ein und definierte sie folgendermaßen: „Cells few, and joined in regular families, each with a definite number.“

Zopf ordnete (1885) die Gattung Sarcina unter die Coccaceen ein; seine Hauptgruppen waren Coccaceen, Bacteriaceen, Leptothricheen und Cladothricheen. Die Coccaceen wurden folgendermaßen definiert: „Sie besitzen nur die Kokken- und die durch Aneinanderreihung von Kokken entstehende Fadenform. Sporenbildung bisher nicht nachgewiesen. Teilung nach einer oder mehreren Richtungen des Raumes.“ Die Gattung Sarcina wird folgendermaßen definiert: „Paketkokken, Teilungen nach 3 Richtungen des Raumes, zur Bildung körperlicher paketförmiger Kolonieen führend, deren Glieder sich später isolieren“.

Bei de Bary (1884), van Tieghem (1884) und Hueppe (1886) steht die Gattung Sarcina mit Recht unter den keine Sporen bildenden Gattungen, weil bis dahin keine Sporen bei den Sarcina-Arten bekannt waren.

In Schröter's System (1886) findet man 3 Hauptabteilungen der Bakterien:

I. Coccobacteria
II. Eubacteria
III. Desmobacteria.

Die Coccobacteriae definiert er so: „Zellen in allen Entwickelungsstadien kugelig oder elliptisch, immer unbeweglich. Sporen, wenn vorhanden durch Umbildung einer ganzen Zelle entstanden.“ Schröter's Bemerkung über die Sporen bezieht sich auf eine zweifelhafte Angabe über Leuconostoc von van Tieghem.

In dem System von de Toni und Trevisan (1889) findet man die Gattung Sarcina in 5 Untergattungen gespaltet. Die Gruppe Sarcina wurde folgenderweise definiert: „Cocci in familias pluristratas vel unistratas, muco matricali plus minus conspicuo involutas consociati: Cystides nullae. Endosporae microsomae, in coccis obvenientes.“ Diese Gruppe wurde dann weiter geteilt.

„A. Cocci in muco matricali firmo cartilagines arcte cumulati,
B. Cocci in muco matricali complanato laxe aggregati.“

Den weiteren Einteilungen wurde zu Grunde gelegt, ob die Zellen regelmäßig oder unregelmäßig Gruppen bilden, oder ob sie aus 2, 4, 8 oder mehr Individuen bestehen, und ob sie kubische oder flaschenartige Familien bilden.

Die Besprechung der Systeme von Miquel (1891), Woodhead (1891) und Ward (1892), die auf der Benutzung des Wohnortes, der

Nährsubstrate, der Gasverhältnisse, der Temperatureinflüsse u. s. w. als Hauptunterscheidungsmerkmale beruhen, gehört nicht hier her.

Die zwei letzten Systeme der Bakterien sind die, welche von Migula (1894) und Fischer (1895) aufgestellt sind. In beiden findet man die Art der Begeißelung als Gattungsmerkmal benutzt. Da im Jahre 1894 drei bewegliche Sarcina-Formen bekannt waren, teilte Migula die früher als Sarcina bezeichnete Gattung in zwei ein. Für die unbeweglichen Formen behielt er den Namen Sarcina bei, und die beweglichen Formen wurden als Planosarcina bezeichnet. Die Gattung Sarcina wurde folgendermaßen definiert:

„Zellen in freiem Zustande vollkommen kugelig, Teilung nach 3 aufeinander senkrechten Richtungen des Raumes. Bewegungsorgane fehlen. Sporenbildung ist für Sarcina pulmonum angegeben, aber vielleicht doch zweifelhaft", und Planosarcina: „Einzelzellen völlig kugelig. Teilung nach 3 aufeinander senkrechten Richtungen des Raumes. Gewöhnlich bleiben die Zellen nur zu Diplokokken oder Tetrakokken, selten zu wirklichen Paketen vereinigt; vielfach trennen sie sich gleich nach der Teilung und erscheinen einzeln. Bewegungsorgane sind vorhanden in Form von kürzeren oder längeren Geißeln, die, wie es scheint, in der Einzahl den Zellen zukommen. Endosporenbildung fehlt."

Auch Fischer (1895) führt dieselben Unterscheidungsmerkmale an. Er definiert die Gattungen folgendermaßen:

Sarcina (Goodsir). Die Teilungswände folgen sich in den 3 Richtungen des Raumes, es entstehen paketartige Wuchsformen, unbeweglich.

Planosarcina (Migula), wie die vorige, aber beweglich, monotrich begeißelt.

Wie wir später sehen werden, sind nicht nur die jetzt sogenannten Planosarcinen, sondern auch sämtliche Sarcinen beweglich, so daß das einzige Trennungsmerkmal wegfällt, und die beiden Gattungen wieder vereinigt werden müssen. Außerdem sind die Sarcinen nicht monotrich, wie Fischer es angiebt, sondern peritrich begeißelt.

Ich stelle jetzt auf Grundlage der später mitgeteilten Untersuchung, in Uebereinstimmung mit Herrn Prof. Meyer (s. diese Zeitschrift. Bd. XXXI. 1902. p. 737) die folgende Definition für die Gattung Sarcina auf.

Sarcina (Ellis et A. M.).

Zellen kugelig, sich nach 3 Richtungen des Raumes teilend, eine Geißel oder mehrere relativ lange, peritriche Geißeln besitzend. Die kugeligen Sporangien eine kugelige Spore enthaltend. Teilung dadurch charakterisiert, daß eine zur Teilungswand senkrechte Streckung der Zelle der Teilung nicht vorhergeht.

Die Zellen aller bisher untersuchten Species sind ohne geformte Reservestoffe und ohne Glykogen.

## **Sarcina ureae** (Beijerinck).

### Tötungszeit der Sporen bei 100° C.

Um die Länge der Zeit zu bestimmen, welche nötig ist, die Sporen zu töten, wurde die folgende Methode, welche in den bakteriologischen Uebungen, die Herr Professor Meyer abhält, immer benutzt worden ist, angewandt. Eine Kultur wurde gewählt, welche reife Sporen enthielt, nämlich Sporen aus einer ungefähr 4 Wochen alten Kultur. Eine Oese

voll von der Kultur wurde in ein kleines steriles Reagenzglas mit einigen Tropfen Wasser gebracht und dann 30 Sekunden in kochendem Wasser erhitzt, wonach das Reagenzglas herausgenommen und sofort in kaltes Wasser gestellt wurde. Von diesen Tropfen wurde etwas auf Dextroseagar geimpft, dann wurden die Sporen wieder 10 Sekunden in kochendem Wasser erhitzt und wieder auf Dextroseagar geimpft. Dasselbe wurde nochmals wiederholt, zuletzt wurden die Sporen 5 Minuten lang erhitzt. Nach der Impfung wurden die Kulturen in den Brutschrank gestellt (stets bei 28° C).

Nach 2 Tagen hatten sich die Kulturen, welche mit 30 und 40 Sekunden lang erhitzten Sporen hergestellt waren, auf der Oberfläche des Agars entwickelt.

Nach 3 Tagen auch die mit 50 Sekunden lang erhitzten Sporen hergestellten.

Obgleich die Kulturen noch 7 Tage im Brutschrank standen, blieb die Kultur, welche 5 Minuten erhitzt war, ganz steril.

Von einer anderen Reihe, welche zur gleichen Zeit angesetzt worden war, wurden nach 5 Tagen die folgenden Resultate erhalten:

30 Sek. +, 40 Sek. +, 50 Sek. +, 5 Min. —

Da nun die Zeit, in welcher die Tötung erfolgte, zwischen 50 Sekunden und 5 Minuten lag, bereitete ich eine neue Reihe, die folgendermaßen erhitzt wurde:

30 Sek., 60 Sek., 2 Min., 3 Min., 4 Min., 5 Min.

Nach 2 Tagen hatte sich nur die 30-Sekunden-Kultur deutlich entwickelt.

Nach 5 Tagen bekam ich folgende Ergebnisse:

30 Sek. +, 60 Sek. +, 2 Min. +, 3 Min. +, 4 Min. —, 5 Min. —

Deshalb wurde eine Reihe angesetzt, welche folgendermaßen erhitzt wurde:

2, 3, $3^{1}/_{2}$, 4, 5, 6 Minuten.

Nach 4 Tagen hatte keine sichtbare Entwickelung stattgefunden.

Nach 6 Tagen dagegen bekam ich:

2 +, 3 +, $3^{1}/_{2}$ —, 4 —, 5 —, 6 —,

so *daß also über 3 Minuten lang erhitzte Sporen stets getötet sind.* Im allgemeinen entwickeln sich die Kulturen am längsten erhitzter Sporen am schwächsten innerhalb einer bestimmten Zeit, so daß

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 30 Sekunden | erhitzte | Sporen | 2 | Tage |
| 1 Minute | " | " | 3—5 | " |
| 2 Minuten | " | " | 5 | " |
| 3 " | " | " | 5—6 | " |

ungefähr bis zur Entwickelung einer deutlich sichtbaren Kolonie brauchen.

Die mikroskopische Untersuchung der Kulturen, deren Sporen 2—3 Minuten erhitzt waren, zeigte, daß die Verlangsamung des Auftretens eines Belags durch die Verlangsamung der Keimung und nicht durch die Verlangsamung der vegetativen Teilung verursacht wurde.

### Die Tötung der vegetativen Zellen bei 100° C.

Um die Länge der Zeit zu bestimmen, welche zur Tötung der vegetativen Zellen nötig ist, war es nötig, eine Kultur herzustellen, welche sicher keine Sporen enthielt. Zu diesem Zwecke wurde das Sporenmaterial 20 Sekunden bei 100° erhitzt und etwa 2 Tage in den Brutschrank eingestellt.

Eine Portion von der 2 Tage alten Kultur wurde auf neuen

Agar geimpft und 1 Tag in den Brutschrank gestellt. Dieses Material wurde benutzt.

Ich fand, daß die vegetativen Zellen 15 Sekunden bei 100° C vertragen konnten. Erhitzung über 15 Sekunden tötete diese Zellen. Die angestellten Versuche ergaben die folgenden Resultate:

5 Sek. +, 10 Sek. +, 15 Sek. +, 30 Sek. —

Daraus muß man schließen, daß unter den beschriebenen Verhältnissen die Tötungszeit der vegetativen Zellen ungefähr 30 Sekunden beträgt.

Tötungszeit für Sporen bei 80° C.

Versuche: Die Sporen wurden folgendermaßen erhitzt:

1 Stunde, 1,25 Std., 1,50 Std., 1,75 Std., 2 Std.,

nach 2 Tagen bekam ich

1 +, 1,25 —, 1,50 —, 1,75 —, 2 —,

nach 3 Tagen

1 +, 1,25 +, 1,50 —, 1,75 —, 2 —,

nach 4 Tagen

1 +, 1,25 +, 1,50 +, 1,75 +, 2 —

In den Kulturen, welche mit dem 1,75 Stunden lang erhitzten Material angesetzt waren, hatten sich nur 3 oder 4 Sporen entwickelt. Die Tötungszeit für die Sporen bei Erhitzung auf 80° C liegt also zwischen 1,75 und 2 Stunden.

Tötungszeit der vegetativen Zellen bei 80° C unter den gleichen Verhältnissen.

Die Versuche wurden genau so angestellt, wie es bei Feststellung der Tötungszeit bei 100° geschah.

Versuche: Die vegetativen Zellen wurden folgendermaßen erhitzt:

5 Sek., 10 Sek., 20 Sek., 30 Sek.,

nach 3 Tagen bekam ich

5 +, 10 +, 15 +, 20 —, 30 —.

Es zeigt also dieser Versuch, daß die vegetativen Stäbchen in den benutzten Röhrchen sicher schon nach 30 Sekunden bei 80° oder 100° absterben; die eigentliche Tötungszeit bei 80° und 100° kann selbstverständlich so nicht festgestellt werden.

Bei den folgenden Versuchen wurde, wenn nichts anderes bemerkt ist, das Sporenmaterial vor der Aussaat 30 Sekunden bei 100° C erhitzt.

Gelatinestichkultur.

a) Unabgekochtes Sporenmaterial.

Eine Gelatineröhrchen wurde mit unabgekochtem Sporenmaterial, welches in Wasser verteilt war, geimpft. Nach 2 Tagen fand sich auf der Oberfläche der Gelatine ein kleiner grobkörniger, grau-weißer Belag. Auch längs des Stichkanals fand sich eine sehr schwache, kaum sichtbare Entwickelung. Nach 4 Tagen war die Entwickelung auf der Oberfläche stärker geworden, und längs des Stichkanals war die Kultur bis ungefähr 7 cm tief, aber sehr schwach angegangen. Zwischen dem 4. und 10. Tage schien die Entwickelung still zu stehen; ausgenommen, daß auf der Oberfläche die Ausbreitung etwas weiter vorgeschritten war. Am 10. bis ungefähr 12. Tage begann an der Oberfläche eine sehr schwache Verflüssigung der Gelatine, welche nach und nach zunahm. Die verflüssigte Gelatine war trübe und zwischen ihr und der festen Gelatine lag unten eine weiße Schicht. In einer Gelatine-Stichkultur,

welche ich im Juli angesetzt hatte, war die Gelatine eine Woche nach Beginn der Verflüssigung bereits bis unten ganz verflüssigt. In allen anderen Stichkulturen dagegen ging die Verflüssigung sehr langsam vor sich, so daß nach 4 Monaten nicht ein Drittel verflüssigt war.

Ich gebe hier meine Notizen über das Verhalten der Kulturen zu den verschiedenen Zeiten an.

4. März, 5 Uhr. Das nicht erhitzte Sporenmaterial wurde geimpft.

5. März, 11 Uhr. Keine sichtbare Entwickelung.

6. März, 11 Uhr. Auf der Oberfläche der Gelatine fand sich ein kleiner, grau-weißer Belag, welcher bei Betrachtung durch die Lupe eine grobkörnige Struktur zeigte. Längs des Stichkanals schwache Entwickelung, bis 1,25 cm tief.

7. März, 11 Uhr. Der Belag auf der Oberfläche ist augenscheinlich stärker entwickelt. Er ist rund und sein Durchmesser besitzt ungefähr die Hälfte des Durchmessers vom Reagenzglase. Die Entwickelung längs des Stichkanals ist mehr als 7 cm tief, aber sehr schwach vorgeschritten.

8. März, 11 Uhr. Der Belag hat sich viel mehr ausgebreitet. Sein Durchmesser ist ungefähr $^3/_4$ des Durchmessers vom Reagenzglase.

15. März, 11 Uhr. Die Gelatine fängt an, sich zu verflüssigen (die Temperatur ist nicht notiert worden).

18. März, 11 Uhr. Gelatine bis 3 cm tief verflüssigt. Verflüssigte Gelatine trübe. Zwischen verflüssigter und fester Gelatine eine weiße Schicht.

b) Von 30 Sekunden bei 100° C erhitztem Sporenmaterial ausgegangen.

Bei erhitztem Material war der Verlauf der Entwickelung wesentlich derselbe, wie bei ungekochtem Material, aber er wurde etwas verlangsamt. Erst nach 3 Tagen war der Belag auf der Oberfläche so stark entwickelt, wie es bei unerhitztem Material nach 2 Tagen der Fall war. Beijerinck sagt in seiner Beschreibung dieser Species (3, p. 52): „Es ist eine leicht auf Fleischgelatine kultivierbare Art, welche darauf flache, teigartige, gelbliche, eine beträchtliche Größe erreichende, nicht-verflüssigende Kolonieen erzeugt, und dadurch sofort in den Impfstichen der Rohanhäufungen sichtbar wird.“

Es hängt diese Differenz zwischen meinen und Beijerinck's Angaben wohl mit der Beschaffenheit der Gelatine und der Temperatur, bei welcher die Beobachtungen angestellt wurden, zusammen.

### Gelatineplattenkultur.

Es wurde von nicht abgekochtem Sporenmaterial ausgegangen, und wurden zwei Verdünnungen hergestellt.

Nach 2 Tagen hatten sich die Kolonieen in der Gelatine der Petri-Schale schon entwickelt. Das Aussehen der Kolonieen in den Petri-Schalen ist verschieden, je nachdem sie auf oder unter der Oberfläche liegen. Auf der Oberfläche waren sie rund, etwas durchsichtig und grau-weiß gefärbt.

Mit schwacher Vergrößerung sah man, daß sie eine feinkörnige Struktur hatten. Die Konturen dieser Kolonieen waren ganz scharf Mikroskopisch untersucht, zeigten die Bakterien der Kolonieen aktive Bewegung. Die Kolonieen, die sich unter der Gelatine befanden, besaßen auch eine runde Kontur, waren aber mit kleinen Lappen versehen.

Die Kolonieen waren nicht so weit entwickelt wie die, welche auf der Oberfläche lagen. Die Bakterien der Innenkolonieen bewegten sich nicht. Um sicher zu sein, daß ich nur eine Species beobachtete, impfte ich eine Kolonie aus der Oberfläche und eine Kolonie aus dem Inneren der Gelatine je in ein Agarröhrchen. Nachdem die Kulturen sich gut entwickelt hatten, wurde von jeder derselben eine Gelatineplattenkultur angefertigt. In beiden Gelatineplatten fanden sich dieselben Unterschiede zwischen den oberen und unteren Kolonieen.

### Wachstum auf verschiedenen Nährsubstraten und in verschiedenen Nährflüssigkeiten.

Von den verschiedenen festen Nährsubstraten, welche angewendet wurden, erwies sich als das beste „Dextrose-Agar". Auf „Agar ohne Dextrose" wuchs diese Species ebenso gut wie auf „Dextrose-Agar", nur die Entwickelung wurde etwas verlangsamt.

In den Nährlösungen 0, II, III, IV V, V$\alpha$, V$\beta$, V$\gamma$, V$\delta$, VI, VII, VIII, IX, X, XI (s. Gottheil) wuchs diese Species nicht. Auch in Harnstofflösung fand keine Entwickelung statt.

Dagegen fand sich in einer Flüssigkeit, welche in ihrer Zusammensetzung dem Dextroseagar glich, 2 Tage nach der Impfung eine starke Trübung. Die meisten der Individuen waren Diplokokken, nur verhältnismäßig selten waren Tri- und Tetrakokken. In allen Kulturen dagegen kamen 6- und 8-zellige Gruppen ziemlich häufig vor, Sporen entwickelten sich nicht. Die Zellen bewegten sich viel schneller als auf festen Substraten. Auch in Nährlösung I, in Nährbouillon, in Mistdekokt und in Urin entwickelte sich diese Species so gut wie in der ebengenannten Flüssigkeit, aber ebenso wenig wie in dieser wurden Sporen gebildet. Da das Fehlen von Sporen durch das Fehlen des Sauerstoffs verursacht sein konnte, impfte ich die vegetativen Zellen auf Nährflüssigkeiten in Kölbchen mit breitem Boden, aber auch hier bildeten sich innerhalb 10 Tagen keine Sporen.

### Die Sporen.

#### Betrachtung des Materials in Wasser.

In Kulturen, welche reife Sporen enthalten, findet man sehr selten völlig isolierte Sporen. Die reife Spore ist, wie wir sehen werden, von einer Hülle, bestehend aus der Sporangienmembran, eventuell auch noch aus Plasmaresten, umgeben.

Die reife Spore erscheint, in Wasser liegend, als ein bei hoher Einstellung sehr stark lichtbrechender, runder Körper, welcher eventuell in der Mitte der Hülle liegt. Man sieht die Membran der Spore als eine etwas dicke Linie mit scharfen Konturen. Bei genauer Untersuchung sieht man, daß die Membran nicht ganz glatt ist, sondern kleine Ecken (ungefähr 5 oder 6) an der Außenseite hat. Diese Ecken befinden sich in gleicher Entfernung voneinander. Die Membran der Spore ist vielleicht mit schwachen Leisten versehen. Da die Sporen so klein sind, ist eine genaue Untersuchung der Struktur nicht möglich. An der Innenseite ist die Membran ganz glatt. Die Hülle, welche die jungen, reifen Sporen meist umgiebt, ist schon in Wasser leicht erkennbar, wie in Fig. 84 und 85 dargestellt ist. In älteren Sporen dagegen ist sie nur als ein ringförmiger Schimmer zu erkennen (Fig. 1, 2, 3, 4). Die Sporen haben einen Durchmesser von $1—1^1/_3$ $\mu$, die Spore und Hülle zusammen einen Durchmesser von 1,5—1,75 $\mu$.

Behandlung der Sporen mit verschiedenen Reagentien.

Bei diesen Versuchen wurde das Sporenmaterial in Wasser gelegt, dann soviel von der betreffenden Farbe mit der Platinöse zugesetzt, bis die Sporen richtig gefärbt waren.

Jodjodkalium (konz.). Mit diesem Reagens tritt der Unterschied zwischen Sporeninhalt, Sporenmembran, Sporangienplasma und Sporangienmembran klar hervor (Fig. 5). Die Sporangien- und Sporenmembranen sind tief, das Sporangienplasma ist schwach und der Sporeninhalt noch schwächer gefärbt. Man sieht bei den jungen, reifen Sporen, daß die Sporangienmembran ebenso scharf konturiert und dick ist wie die Membran der Oidienzelle. In alten Sporen dagegen (Fig. 5) ist diese Membran dünner und unregelmäßiger geworden (vergl. Fig. 5 mit Fig. 75), je nachdem der Zerfall des Sporangiums eingetreten ist.

Methylenblau (1 + 10). Setzt man zu einem Präparat nur soviel von diesem Farbstoff, daß die Spore genügend gefärbt wird, so sieht man die Spore, wie es in Fig. 6 dargestellt ist. Die Sporangienmembran ist nicht gefärbt. Das Sporangienplasma ist schwach und die Sporenmembran tief gefärbt. Bei dieser Methode kann man die Ecken, die die Spore hat, am besten nachweisen. Bei längerer Einwirkung schwillt die Spore an, wie in Fig. 7 dargestellt ist, und wie es unten beschrieben wird.

Formolfuchsin-Methode (Arthur Meyer, Flora 1889). Bei dieser Methode treten die Unterschiede zwischen Sporeninhalt, Sporenmembran, Sporangienplasma und Sporangienmembran schärfer hervor, als wenn man mit Jod behandelt, weil der Sporeninhalt fast immer ganz farblos und das Sporangienplasma verhältnismäßig tiefer gefärbt ist als bei der Jodfärbung.

Wie bei Jodfärbung, sieht man auch hier den Unterschied zwischen jungen, reifen Sporen, die von einer dicken Sporangienmembran eingeschlossen sind, und alten Sporen, bei denen Zerfall der Sporangienmembran eingetreten ist (Fig. 8).

## Behandlung mit Eau de Javelle.

Um sicher zu bestimmen, daß die mit Reagentien stark gefärbte Peripherie der Sporen wirklich eine Membran und nicht eine äußere, dichtere Schicht des Plasmas war, behandelte ich die Sporen mit frischer Eau de Javelle, um das Cytoplasma aufzulösen. Dieser Versuch wurde ausgeführt, weil Herr Prof. Meyer (18) bei Untersuchung einer größeren Anzahl von Species der Gattung Bacillus nachgewiesen hat, daß der Protoplast der Sporangien und Bakterienoidien viel weniger widerstandsfähig ist als die Membran. Die besten Ergebnisse wurden mit einem Gemisch von 1 Tropfen Wasser und 1 Tropfen konzentrierter, frischer Eau de Javelle erhalten. Nach 4 Minuten sind die Sporangienreste gelöst und alle Sporen infolgedessen frei. Allmählich verliert dann die Spore ihr charakteristisches, starkes Lichtbrechungsvermögen. Der Prozeß schreitet ganz langsam vor, und nach 30 Minuten ist der Inhalt vollständig aufgelöst. Jetzt ist die Sporenmembran deutlich sichtbar. Sie ist im Vergleich zu der Größe der Spore ziemlich dick, und die innere und äußere Kontur ist nach der Auflösung des Cytoplasmas gut zu erkennen. Nach weiteren 2 Stunden wird die Membran selbst gelöst.

Wenn man die Auflösung verfolgt, sieht man, daß die Spore nicht größer wird, die Membran aber anschwillt, und später findet man einen

undeutlich sichtbaren Fleck (Fig. 67α, β, γ, δ). Endlich verschwindet auch der Fleck. Wenn man nach $^1/_4$-stündiger Einwirkung der Lösung ein Trockenpräparat macht und mit Methylenblau (1 + 10) färbt, so erscheint die Sporenmembran gequollen und die Spore nur wenig dicker (Fig. 66α vor, Fig. 66β nach der Behandlung mit Methylenblau).

### Behandlung der angetrockneten Sporen mit verschiedenen Reagentien.

Zunächst wurde eine Spore gewählt, welche nicht von Plasmaresten umgeben war.

Das Sporenmaterial wurde in einem Tropfen Wasser ausgebreitet und bei gewöhnlicher Temperatur angetrocknet. Das Präparat wurde in Wasser gelegt und an zwei Seiten mit einem Wachsrand versehen, so daß es fest lag und man seitlich Reagentien zufließen lassen und absaugen konnte. Dann wurde eine Spore, welche keine Plasmahülle hatte, ausgewählt und gezeichnet (Fig. 68). Zunächst wurde Methylenblau (1 + 10) seitlich zugesetzt und die sich färbende Spore genau beobachtet. Man sah, daß die Sporenmembran anschwoll und sich vergrößerte, wie in Fig. 69 dargestellt. Dann wurde das Präparat mit 80-proz. Alkohol entfärbt, wobei sich die Spore zu der Größe, die sie in Wasser hatte, zusammenzog. Auch bei Behandlung der Spore mit Jodjodkalium (konz.) oder Fuchsin fand eine Schwellung statt, aber nicht so bedeutend, als wenn die Spore mit Methylenblau behandelt wurde (Fig. 70 u. 71).

Nach derselben Methode wurde eine Spore untersucht, welche mit einer Hülle umgeben war.

Fig. 72—76 stellen die Ergebnisse eines Versuches dar. Bei einer in Wasser liegenden Spore (Fig. 72) war die Membran scharf konturiert und die Ecken waren sichtbar. Die Hülle bestand aus einer unregelmäßigen, dünnen, nicht scharf konturierten Masse, die in der betreffenden Spore auf einer Seite dicker als auf der anderen war. Die mit Methylenblau (1 + 10) behandelte Spore (Fig. 73) war bedeutend größer geworden und tief gefärbt. Die Hülle war schwach blau gefärbt. Dieselbe Spore, mit 80-proz. Alkohol entfärbt (Fig. 74), sah genau so aus wie die, welche vorher in Wasser lag.

Fig. 75. Mit Jodjodkalium (konz.) behandelt; man sieht, daß die Sporangienmembran, die in Wasser und in Methylenblau nicht sichtbar war, jetzt tief gefärbt und innerhalb der Sporangienmembran die Spore selbst schwach gefärbt ist. Die Sporangienmembran ist tiefbraun gefärbt. Der Raum zwischen der Sporangienmembran und der Sporenmembran ist schwach braun.

Fig. 76. Das Jod wurde mit Wasser ausgewaschen, bis die Sporangienmembran nicht mehr sichtbar war und dann wurde mit Fuchsin gefärbt. Die verschiedenen Teile sind ebenso gefärbt wie mit Jod, aber noch deutlicher unterscheidbar.

Fig. 60—65 stellen Bilder einer anderen Reihe von Versuchen, die mit einem Diplococcus an einem getrockneten Präparat gemacht worden sind, dar.

Fig. 60. In Wasser betrachtet.

Fig. 61. Mit Jodjodkalium (konz.) behandelt.

Fig. 62. Nach Entfärbung mit 80-proz. Alkohol und Waschen mit Wasser; es wurde Fuchsin seitlich zufließen gelassen.

Fig. 63. Nach Entfärbung und Waschen mit Methylenblau (1 + 10) behandelt.

Fig. 64. Das Präparat wurde ohne Entfärbung mit Bismarckbraun behandelt. Die Spore zog sich zusammen, und war schwach blau gefärbt. Die Sporangienmembran und das Plasma dagegen wurden braun gefärbt. Daß die ganze Spore schwach gefärbt war, erklärt sich dadurch, daß bei längerer Behandlung mit Methylenblau die Farbe allmählich durch die Membran diffundierte, was gewöhnlich bei jungen, reifen Sporen stattfand.

Fig. 65. Das Präparat wurde mit Eau de Javelle etwas entfärbt, um das Uebermaß von Bismarckbraun wegzubringen, dann mit Methylenblau gefärbt. Die Sporenmembran ist tiefblau gefärbt, der Sporeninhalt ist farblos, das Plasma und die Sporangienmembran dagegen sind blau gefärbt.

Fig. 77—82 stellen noch eine weitere Reihe dar, in welcher die Einwirkung verschiedener Reagentien auf eine junge, im Sporangium liegende Spore beobachtet wurde.

Fig. 77 in Wasser, Fig. 81 mit Jod, Fig. 80 mit Methylenblau (verdünnt), Fig. 78 mit Methylenblau (1 + 10); Fig. 79 Erscheinung beim Entfärben mit Alkohol (der Farbstoff ist in die Spore eingedrungen und der Alkohol hat sie zusammengezogen); Fig. 82 ist mit Fuchsin behandelt (das Plasma ist etwas abgehoben, was bei der Färbung mit Fuchsin oft stattfand).

Die Gram'sche Färbung. Das Material wurde auf ein Deckglas gestrichen, bei gewöhnlicher Temperatur angetrocknet und dann nach Gram gefärbt. Fig. 9 stellt einen Diplococcus dar, der nach diesem Verfahren behandelt wurde. Man sieht, daß die Sporangienmembran nicht gefärbt ist und daß die Gram'sche Färbung ähnlich wirkt, wie die Methylenblaufärbung, ohne daß Quellung der Sporenmembran eintritt.

Aus den Versuchen geht also hervor:

1) Daß die Sporenmembran der lebenden Spore relativ dick und in Eau de Javelle sehr schwer löslich ist und, wie die Spore selbst, durch Farbstoffe, vorzüglich durch Methylenblau, quillt (Fig. 69, 73, 7).

2) Sieht man, daß die Spore, auch wenn sie in Wasser liegend fast frei zu sein scheint, doch noch von Sporangienmembran und Plasma umschlossen sein kann (Fig. 5, 8, 61, 62, 64, 65).

3) Die Membran, in welcher eine völlig reife Spore liegt, ist in Wasser nicht erkennbar, mit Methylenblau nicht färbbar, erscheint also gegenüber der Membran der Oidien verändert; sie färbt sich jedoch mit Jod, sowie auch mit Fuchsin, ebenso mit Bismarckbraun intensiv (Fig. 5, 8, 61, 62, 64, 65, 77—82.)

---

Unter den Coccaceen sind jetzt 2 Formen bekannt, die Sporen bilden: Sarcina pulmonum und Sarcina ureae. Die Sporenbildung der Sarcina pulmonum ist von Hauser (11) untersucht. Nach der Beschreibung ist es zweifellos, daß er es mit echten Sporen zu thun hatte.

Hauser schreibt: „Sind einmal in einer Kultur reife Sporen zur Entwickelung gelangt, so besitzen dieselben eine außerordentliche Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen und sonstige Einflüsse. In eingetrocknetem Zustande behalten sie jahrelang ihre Keimfähigkeit und durch Erhitzen bis zu 110° im Trockenschrank wird letztere nicht beeinträchtigt. Ja ich konnte an einem auf sterilisierten Deckgläschen angetrockneten Material, welches ich im Winter 1884 in sterilisierte Reagenzgläschen eingeschmolzen und damals auf 110° erhitzt hatte, im Juni dieses Jahres, d. i. nach $3^1/_2$ Jahren, noch die Entwickelung frischer Kulturen beobachten."

Die Sporen dieser beiden oben genannten Arten unterscheiden sich von den Sporen vieler anderer Bakterien nur dadurch, daß sie eine Zeit lang nach der Reife nicht frei werden, sondern von dem peripheren Teil der Zelle, wie von einem Hofe umgeben erscheinen. Nach Hauser wurden auch die Sporen von Sarcina pulmonum schließlich frei.

In meinen Untersuchungen über Sarcina ureae fand ich vollständig isolierte Sporen nur in Kulturen auf „Agar ohne Dextrose".

### Entwickelung der Species Sarcina ureae aus den Sporen auf Dextroseagar.

Ich gebe hier den allgemeinen Verlauf der Entwickelung des 30 Sekunden abgekochten Sporenmaterials auf Dextroseagar. Nach $4^1/_2$ Stunden: Die Oberfläche des Agars ist nicht sichtbar verändert. Man sieht, wenn eine große Menge von Sporenmaterial geimpft wurde, daß eine geringe Anzahl von Sporen schon gekeimt hat. Der Sporeninhalt ist angeschwollen und hat sein stark lichtbrechendes Aussehen verloren. Die Sporenmembranen sind noch nicht abgestoßen. Nach 16—18 Stunden: Die Oberfläche des Agars ist mit einer großen Anzahl von kleinen Pünktchen bedeckt. Die gekeimten Zellen zeigen eine sehr schwache Bewegung. Die vegetative Entwickelung ist weiter fortgeschritten. Eine große Anzahl von Sporen hat noch nicht gekeimt.

Man beobachtet Diplo-, Tri- und Tetrakokken. Mehrzellige Gruppen kamen im normalen Verlauf der Entwickelung nur selten vor. Die Zellen messen 1,25—1,75 $\mu$; wenn sie mit Methylenblau (verd.), Jodjodkalium oder Formolfuchsin behandelt werden, ist die Zellmembran durch ihre tiefe Farbe von dem Cytoplasma gut zu unterscheiden. Die Membran der Diplo-, Tri- und Tetrakokken ist da, wo sich die Zellen nicht berühren, immer scharf konturiert, was sich schon ohne Reagentien sehen läßt. An den Berührungsstellen ist die Grenze zwischen den Zellen je nach dem Zustande der Teilungsstadien mehr oder weniger scharf zu erkennen. Die Fig. 16, welche mit Methylenblau und Fig. 40, welche mit Jodjodkalium gefärbte Individuen wiedergeben, zeigen die Erscheinung der wenig scharfen Grenze, und Fig. 17, 18, 19, 20, die Erscheinung des Vorhandenseins der scharfen Konturen an den Berührungsstellen. In der Mitte jeder gut gefärbten Zelle findet man einen runden, mit scharfer Kontur versehenen, verhältnismäßig großen, gefärbten Körper (Fig. 17, 18, 20, 40, 45). Ich nehme an, daß dieser Körper der Kern ist. Es giebt nur einen in jeder Zelle, jedoch bei der Kultur dieser Species in Flüssigkeiten habe ich ausnahmsweise 2 gesehen (Fig. 21). Manchmal, besonders aber, wenn die Zelle im Begriff war, sich zu teilen und eine dünne Wand gebildet hatte, sah ich die Kerne der so gebildeten Diplokokken dicht an der neu gebildeten Wand liegen. Auch manchmal lagen sie an der Wand, wenn die Tochterzellen schon durch Verschleimung getrennt waren (Fig. 42). Um nachzuweisen, daß ich den Kern mit den Volutanskugeln, die nach den Untersuchungen von Grimme (10) sehr oft bei verschiedenen Bakterien vorkommen, nicht verwechselt habe, untersuchte ich alle Stadien der Entwickelung auf Volutanskugeln. Mittels der Methylenblau- und der Methylenblau + Jodreaktionen fand ich keine Spur des genannten Reservestoffes in dieser Species. Ebenfalls konnte ich nachweisen, daß Fett und Glykogen nicht vorkommen. In Fig. 18 sieht man den Kern in einer Plasmalamelle liegen und manchmal sieht man einen runden in der Mitte liegenden Kern, von welchem manchmal zwei, bisweilen drei Plasmastrahlen ausgehen.

Eine Anzahl von Schwärmern mit sehr schwacher Eigenbewegung ist zu beobachten. Die Bewegung ist jetzt noch kaum von Molekularbewegung zu unterscheiden. Die Bewegung wird, wie wir später sehen werden, bei weiterer Entwickelung der Kolonie stärker, erreicht ungefähr nach 40 Stunden ihr Maximum und erlischt erst nach Ausbildung der Sporen.

Nach 23 Stunden fand ich eine große Anzahl von Pünktchen, aber keinen zusammenhängenden Belag auf der Agaroberfläche. Man sah nur noch wenige ungekeimte Sporen. Die vegetative Entwickelung der gekeimten Zellen ist entweder weitergeschritten, oder es ist eine größere Anzahl von Sporen inzwischen gekeimt. Wie in Kulturen im Alter von 16—18 Stunden, sieht man Diplo-, Tri- und Tetrakokken und nur sehr ausnahmsweise 6-, 8- und mehrzellige Gruppen. Bei Anwendung von Reagentien, wie Methylenblau, Jodjodkalium und Formolfuchsin konnte ich auch in 23—26 Stunden alten Kulturen, die Zellmembran, das Cytoplasma und den Zellkern voneinander unterscheiden. Die vegetative Entwickelung ist etwas fortgeschritten und die Bewegung der Zellen eine etwas schnellere. Nach 35—45 Stunden zeigte die Kultur einen großen Fortschritt. Die Oberfläche des Agars war in ganzer Ausdehnung mit einem grauweißen Ueberzug bedeckt. Mikroskopisch findet man dann, daß die Zellen sich sehr schnell bewegen, und daß jede Zelle im Begriff ist, sich zu teilen, so daß nunmehr die Gelegenheit geboten ist, den Teilungsvorgang zu studieren. Letzterer wird unten beschrieben. Wie in jungen Kulturen, waren die Gruppen meistens Diplo-, Tri- und Tetrakokken, ausnahmsweise fanden sich 6- und 8-zellige. Die 6-zelligen Gruppen bestanden aus 2 Lagen von je 3 in einer Ebene und in einem Dreieck liegenden Zellen. In ähnlicher Weise bauten sich auch die 8-zelligen Gruppen auf.

Wenn Kulturen, die 35—45 Stunden alt waren, mit verschiedenen Reagentien behandelt wurden, konnte ich, wie in jüngeren Kulturen, Zellmembran, Cytoplasma und Kern unterscheiden. In jeder Zelle fand ich immer nur einen Kern. Nach 45—55 Stunden ist der Belag etwas stärker geworden. Die Zellen sind jetzt im Begriff, Sporen zu bilden, und für Untersuchungen über die Entwickelung der Spore geeignet. Die meisten der Sporangien enthalten noch nicht vollständig reife Sporen. Die Bewegung der Sporangien ist sehr stark. Nach 69 Stunden sieht man eine größere Zahl reifer Sporen. Die meisten lebenden Gruppen enthalten entweder junge oder reife Sporen. Man bemerkt auch, daß einige Gruppen sich so weit entwickelt haben, daß sie bloß aus Sporen und Sporangienresten bestehen, wie es in Fig. 2, 3, 4 gezeichnet ist. Diejenigen Sporen, an denen nur noch Reste des Sporangiums haften, sind unbeweglich. Aber diejenigen, die ihre Geißeln noch nicht abgeworfen haben, besitzen lebhafte Bewegung. Fig. 35 zeigt eine solche Sporangiengruppe.

Der Kreis der Entwickelung ist jetzt abgeschlossen bis auf das Freiwerden der Sporen. Dieses scheint nun auf zwei verschiedene Arten zu erfolgen.

1) In beinahe allen Fällen bleiben die Sporen einer Gruppe zusammen, bis sie auf einen neuen Nährboden gebracht werden. Dann werden sie durch einen Riß in der Sporangiumwand frei (Fig. 22, 25). In Fig. 25, mit Methylenblau (1 + 10) behandelt, sieht man das Freiwerden der Spore. Der Sporangiumrest war ganz schwach gefärbt und leicht von der tief gefärbten Sporenmembran unterscheidbar. Manchmal, besonders in allen auf Agar ohne Dextrose geimpften Kulturen,

sah ich eine verhältnismäßig große Anzahl von isolierten Sporen, die auf dem alten Nährsubstrat von der sie umgebenden Sporangienhülle frei geworden waren.

2) Unter noch anderen, aber sehr seltenen Umständen schwillt die ganze Gruppe an, wie in Fig. 23 dargestellt, augenscheinlich vor der Auflösung der Sporangienreste.

Im Vergleich mit den Bodenbakterien, die von Gottheil (9) beschrieben sind, findet die Sporenbildung nicht so reichlich statt, und der Belag ist nicht so dick wie in diesen Fällen.

Bei späteren Untersuchungen habe ich die Meyer'sche Modifikation des Zettnow'schen Spirillenagar benutzt, um diese Species zu kultivieren, und fand, daß nach 2 Tagen Sporen reichlich vorhanden waren.

### Keimung.

Um die Keimung der Sporen zu beobachten, wurde eine große Menge von Sporen, welche 30 Sekunden bei 80° C erhitzt waren, auf die Oberfläche des Agars geimpft. Nach $4\,^1/_2$ Stunden wurden sie untersucht. Ich konnte nur wenige keimende Sporen finden. Wahrscheinlich zeigt Fig. 10 das erste Stadium der Keimung. Die Zelle ist geschwollen und hat schon ihre stark lichtbrechende Eigenschaft verloren. Die dünne umgebende Schicht ist vielleicht die Sporenmembran. In Fig. 11 sieht man ein weiteres Stadium der Entwickelung. Es erscheint an der Peripherie ein dicker Belag, welcher dichter als das übrige Plasma aussieht. Die Sporenmembran konnte ich jetzt nicht als eine besondere Schicht erkennen, aber die Ecken, die man noch sah, sind ein Zeichen, daß die Sporenmembran noch nicht abgeworfen war. Nach 6 Stunden wurde das Material derselben Kultur nochmals untersucht und schwach mit Fuchsin gefärbt. Manchmal sah man dabei die ungekeimten Sporen noch an der Sporangienwand hängen, aus welcher sie durch eine Rißstelle austreten (Fig. 12). Hier sieht man, daß durch das Fuchsin die Spore nicht, wohl aber die Sporangienmembran gefärbt war. Fig. 12—15 stellen die verschiedenen Stadien des Heranwachsens des jungen Oidiums dar, wie man sie in diesem mit Fuchsin gefärbten Materiale auffinden konnte.

Die Sporenmembran konnte ich später nicht mehr sehen, während die gerissene Sporangienmembran meist neben der Spore deutlich erkennbar liegen blieb. In Fig. 15 sieht man die erste Teilung in der aus der Spore hervorgegangenen Zelle. Ein Abwerfen der Sporenmembran konnte also nicht beobachtet werden. Die Untersuchung der Keimung ist überhaupt unvollständig durchgeführt, da es mir nicht gelang, kontinuierliche Beobachtungen einer keimenden, reifen Spore durchzuführen. Die Sporen keimten in der feuchten Kammer nicht.

### Die Begeißelung.

Für die Geißelfärbung benutzte ich Loeffler's Fuchsintinte als Beize. Das Material wurde auf dem Wärmeapparate bei 40—45° C 5 Minuten lang fixiert, dann wurde die Beize hinzugefügt. Nachdem letztere 4—6 Minuten eingewirkt hatte, wurde zunächst, nach Abspülung mit Wasser, die Farbe auf das Deckglas getropft und bis zur Dampfentwickelung über der kleinen Flamme eines Bunsen-Brenners erhitzt, und 2 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde das Präparat abgespült und, nach dem Trocknen, unter Xylol untersucht. In Kulturen, die jünger als 16—18 Stunden waren, konnte

ich keine Geißeln nachweisen. Erst in 16—18 Stunden alten Kulturen, wo die Zellen zuerst eine sehr schwache Eigenbewegung besitzen, gelang es mir, die Geißeln nachzuweisen. In diesen Kulturen sind sie 4—6 mal so lang als der Durchmesser der einzelnen Zellen und geschlängelt. In den meisten Fällen hatte nur eine Zelle jeder Zellengruppe eine Geißel. Ausnahmsweise findet man auch mehrere. Möglich wäre es bei den eingeißeligen Gruppen, daß die Geißeln abgeworfen worden wären, doch schien mir das nach dem Aussehen der Präparate nicht der Fall zu sein (Fig. 24, 26, 27, 30). In Fig. 27 ist die Zellgruppe durch die starke Färbung angeschwollen. In 23 Stunden alten Kulturen schien mir jede Zellgruppe normalerweise auch nur eine Geißel zu besitzen. Nach 40—50 Stunden sind die Zellen in aktiver Bewegung und für die Geißelfärbungen sehr geeignet. Die Zahl der Geißeln, die zu jeder Gruppe gehören, ist ganz verschieden, aber im allgemeinen sind sie stärker und zahlreicher, als in den jüngeren Stadien (Fig. 29, 31), und manchmal konnte ich 12—14 Geißeln an einer Gruppe beobachten. Die Geißelfärbung der 50—60 Stunden alten Kulturen zeigte, daß die Geißeln ebenso groß und zahlreich wie in 40—50 Stunden alten Kulturen waren. In den Fig. 32 u. 34, welche solche Gruppen wiedergeben, sind die Geißeln etwas dicker gezeichnet, als sie wirklich waren, weil sie soviel Farbstoff absorbiert und deshalb ihr Volumen vergrößert hatten. Da die meisten Gruppen im Begriffe sind, Sporen zu bilden, sieht man jetzt in den Geißelpräparaten die begeißelten Sporangien (Fig. 35, 36). Nach 69 Stunden bemerkt man, daß einige Gruppen so weit entwickelt sind, daß sie bloß aus Sporen und Sporangienresten bestehen (Fig. 2, 3). Diese sind dann unbeweglich. Ich habe Geißeln in 5—8 Tage alten Kulturen noch oft nachgewiesen. In diesen Stadien waren sie immer stark und zahlreich (Fig. 33). Man bemerkt oft in 5—8 Tagen alten Kulturen, daß manche aktiv beweglichen Zellgruppen keine Sporen gebildet haben. Die Geißeln dieser vegetativen Zellgruppen sind gewöhnlich zahlreicher als diejenigen jüngerer Kulturen (Fig. 33). Nach 8 Tagen sind die Gruppen, die keine Sporen enthalten, meistens unbeweglich und abgestorben. Einmal habe ich Geißeln in einer Kultur, welche 4 Wochen alt war, nachgewiesen.

Ich notiere hier die Zahl der Geißeln, wie sie in meinen verschiedenen Zeichnungen vorkommen. Die Präparate wurden aus 2—4 Tage alten Kulturen hergestellt, als die Bewegung am lebhaftesten war.

*α*-, *β*-, *γ*-, *δ*-Zellen einer Zellgruppe.

1) Diplokokken:
*α*) 1, 2, 2, 4, 3.
*β*) 0, 1, 0, 2, 1.

2) Trikokken:
*α*) 2, 1, 1, 1.
*β*) 0, 0, 2, 1.
*γ*) 0, 0, 3, 0.

3) Tetrakokken:
*α*) 1, 1, 2, 2, 1, 1, 3, 2, 4, 1, 3.
*β*) 0, 2, 3, 3, 2, 1, 1, 1, 0, 1, 1.
*γ*) 0, 1, 1, 3, 3, 0, 1, 0, 0, 1, 0.
*δ*) 0, 1, 0, 1, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0.

Daraus kann man schließen, daß die Zahl der Geißeln, die an einer Zelle einer Zellgruppe vorzukommen pflegt, von 0—4 variiert, daß aber die Einzahl der Geißeln relativ häufig ist, und früher haben wir gesehen, daß junge Gruppen meist nur an einer Zelle eine Geißel besitzen.

Verschiedene Arten der Bewegung: Die Bewegung der 6-

und 8-zelligen Gruppen war am häufigsten eine ziemlich schnelle Rotation unter gleichzeitiger Vorwärtsbewegung. Die Bewegung der 2-, 3- und 4-zelligen Gruppen zeigt 4 verschiedene Formen: a) geradlinige, unter gleichzeitiger zitternder Bewegung der Gruppen, b) Rotation, unter gleichzeitiger Vorwärtsbewegung, c) Rotation an Ort und Stelle, d) zitternde Bewegung an Ort und Stelle. Die Richtung der Bewegung ändert sich bisweilen spontan, gewöhnlich beim Auftreffen auf ein Hindernis. Zuweilen hatten die Diplokokken eine besondere merkwürdige Kreisbewegung, eine doppelkugelförmige Bewegung, wobei der Drehungswinkel an der Spitze bei dem einen Kegel größer als bei dem anderen war, wahrscheinlich weil die eine Zelle mehr oder stärkere Geißeln als die andere besaß.

## Zellteilung.

Meine Beobachtungen über Zellteilung wurden meistens an Kulturen, welche 35—45 Stunden alt waren, gemacht, da ich gefunden hatte, daß in Kulturen von diesem Alter die Zellteilungen am häufigsten auftreten.

Man beobachtet in diesen Kulturen nicht selten gestreckte Zellen mit Innenwänden (Fig. 16, 48), und es ist die erste Frage, die man mittels Vergleichung der verschiedenen Entwickelungsstadien, welche sich in den Kulturen finden, zu entscheiden versuchen kann, ob die Teilungswand einer Zelle, die in 2 Zellen zerlegt werden soll, vor oder nach der Streckung der kugelförmigen Zelle auftritt. Aus den Fig. 46, 47 geht mit Sicherheit hervor, daß die die Zelle in 2 Zellen teilende Wand vor der Streckung der Kugel angelegt werden kann. Ja, es können sogar anscheinend successive 2 Zellwände auftreten, ohne daß sich die kugelförmige Zelle streckt. Die in Fig. 58 und 19 dargestellten Zellen könnten sich erst nach der Streckung geteilt haben; da ich aber niemals eine gestreckte, ungeteilte Zelle beobachten konnte, muß ich schließen, daß die Teilung vor der Streckung stattfindet.

Man findet ferner nicht selten über jungen Teilungswänden eingeschnürte Formen, wie Fig. 18, 24, 40. Es würde sich fragen, ob solche Einschnürungen vor der Anlage der Wand beginnen. Ich habe niemals eingeschnürte Formen gefunden, in denen keine Anlage der Wände zu beobachten war. Danach findet die Einschnürung erst nach der Wandbildung statt. Allerdings scheint sie mir wie Fig. 18 und 40 zeigen, mehr oder weniger bald nach der ersten Anlage der Zellwand einzutreten. Daß in manchen Fällen Einschnürung zwischen 2 Zellen unterbleiben kann, zeigt Fig. 52, wo ein Diplococcus mit Sporen, ohne Einschnürung abgebildet ist. Eine weitere Frage, welche für das Verhältnis der Teilung der Oidien von Bedeutung ist, ist die, in welcher Weise die Zellwände sich ausbilden. Es scheint mir, als wäre das jüngste Stadium der Zellwand, das in Fig. 40 dargestellte. Diese erscheint bei Jodfärbung als relativ dünne, scharfe, schwach gefärbte Linie. Vielleicht stellt Fig. 41 ein älteres Stadium der Zellwandentwickelung dar, und Fig. 42 das letzte, in welchem eine Trennung in der jetzt durch Jod ungefärbt bleibenden, verquellenden Mittellamelle stattzufinden beginnt. Bei dem in Fig. 43 dargestellten Diplococcus ist die Mittellamelle völlig verquollen. Der Fig. 40 entsprechen bezüglich des Stadiums der Scheidewandbildung die Fig. 44, 46, 47, 38, der Fig. 41 die Fig. 19, der Fig. 42 die Fig. 45, 55, 56, die in verschiedener Weise gefärbt wurden (siehe Tafelbeschreibung). Infolge des verschiedenen Ineinandergreifens der Zellwandbildung, der Verschleimung der Mittellamelle und der Abrundung der Zellen, können 1- bis 8-kokkige, selten

16-kokkige, paketartige Individuen entstehen. Häufig sind Diplokokken mit abgerundeten Zellen (Fig. 51), seltener solche mit halb abgerundeten (Fig. 52, 59). Nicht selten sind Trikokken, die wohl entstehen, wie es Fig. 27 andeutet. Tetrakokken sind auch häufig. Verschiedene Stadien ihrer Entstehung und Ausbildung zeigen die Fig. 28, 46, 47. Fig. 46 zeigt nur einen Tetracoccus dessen Zellen beinahe frei sind, und es ist zu erwarten, daß seine 4 Einzelkokken sich in Kürze trennen.

Um nachzuweisen, daß Teilung wirklich in 3 Richtungen des Raumes stattfindet, wurde die folgende Methode angewendet: In 4 Tagen alten Kulturen findet man manchmal bewegliche Gruppen sporenloser, großer Zellen. Ein derartiges Präparat wurde schwach mit Safraninlösung gefärbt, wobei die Teilungswände dieser Gruppen deutlich sichtbar werden, und die Beweglichkeit soviel gehindert wird, daß die Gruppen verhältnismäßig langsam rollen. Nun konnte (Fig. 44a u. b) die Lage der Zellwände deutlich erkannt werden.

So weit wie mir die Litteratur bekannt ist, sind nur in Migula's System der Bakterien. Bd. I. p. 139—140 Bemerkungen über Zellteilung bei den Coccaceen zu finden. Migula kommt zu dem Schlusse, daß bei den Sarcinen fast regelmäßig eine Vergrößerung der Zellen unter vollständiger Wahrung der Kugelform stattfindet. Nur unter ungünstigen Lebensbedingungen unterbleibt diese Vergrößerung. Zu meinen Beobachtungen wurde das Material, wie oben erwähnt, stets 35—45 Stunden alten Kulturen entnommen, wo also die vegetative Vermehrung ihr Maximum erreicht hatte, und beinahe jede Zelle im Begriff war, sich zu teilen, so daß von ungünstigen Bedingungen nicht die Rede sein konnte. Zellen, wie sie in Fig. 46 und 47 dargestellt sind, kamen sehr häufig vor, und man sah, daß in diesen Zellen keine besondere Vergrößerung vor der Teilung stattgefunden hatte. Weiter haben meine Untersuchungen gezeigt, daß die Teilungsvorgänge bei den Sarcinen gegenüber denen bei allen übrigen Bakterien dadurch charakterisiert sind, daß eine Streckung der Zelle der Teilung nicht vorhergeht. In diesem Punkt stimmen meine Beobachtungen mit denen Migula's überein; auch ich habe nie eine gestreckte Zelle bei meiner Untersuchung über Sarcina ureae und auch nicht bei den anderen Sarcina-Species beobachtet. Weiter ist der Teilungsvorgang dann wesentlich derselbe, wie in der typischen Bakteriengattung Bacillus. Die Zellteilung bei Bac. asterosporus, wie sie von Arthur Meyer (16, 1897) beschrieben ist, stimmt mit der von Sarcina ureae vollständig überein.

## Sporangien und Sporenbildung.

Nach 50—60 Stunden fangen die Zellen an, Sporen zu bilden, ohne zur Ruhe gekommen zu sein, und zwar dann, wenn die Bewegung am schnellsten ist. Ich verfolgte die Sporenentwickelung in Zellen, die mit Methylenblau (1 + 10), Jodjodkalium (1 : 2 : 100) und mit Formolfuchsin gefärbt wurden, und fand alle in einer für meine Untersuchung günstigen Entwickelung. Wenn das Material mit Fuchsin gefärbt wurde, wurde die Meyer'sche Formolfuchsin-Methode angewendet. Wenn ich mit Jod färbte, so fügte ich zu einem Tropfen Wasser, der das Material enthielt, so viel konz. Jodjodkalium hinzu, bis ich die richtige Färbung erhielt. Wenn mit Methylenblau gefärbt wurde, verfuhr ich gleich, aber anstatt in Wasser, wurde das Material in Formol gelegt. Die letzten Entwickelungsstadien untersuchte ich auch an trockenen Präparaten. Es

scheint so, als fände die Sporenentwickelung in der Weise statt, daß sich sehr schnell eine Sporenvakuole um den einzigen Kern der Zelle ausbildet. Die Sporenvakuole ist stets rund, und der Kern scheint immer in der Mitte dieser Vakuole zu liegen. Er ist verhältnismäßig groß und ebenso tief gefärbt wie das Sporangiencytoplasma, welches die Vakuole umgiebt. In Fig. 86, 87 (mit Methylenblau gefärbt) sieht man, daß die Vakuole in dem Cytoplasma erzeugt ist. Man könnte vielleicht glauben, daß in diesen Stadien die Sporangienmembran gequollen sei; jedoch spricht die Thatsache dagegen, daß die Vakuolen im Verhältnis zu der Größe der Zelle immer gleich groß sind, und daß bei der Behandlung mit Methylenblau eine Anschwellung der Zellmembran auch sonst nie stattfindet (Fig. 88 mit Jod gefärbt). Es scheint, als ob in diesen Stadien das Cytoplasma der Sporangien wegen der Bildung der Vakuolen dichter geworden, und mit Reagentien nicht von der Sporangienmembran zu unterscheiden sei. Auf diesen Zustand folgt der des Dichterwerdens des Sporenplasmas. Mit Reagentien ist die junge Spore tiefer als das umgebende Plasma gefärbt (Fig. 50 mit Methylenblau, Fig. 57, 58 mit Fuchsin gefärbt). Außerdem bemerkt man, daß (in Fig. 58) die Sporenmembran schon als eine dichtere Schicht an der Peripherie der Spore erkennbar ist, und bei allen Individuen, die mit Fuchsin oder Jod gefärbt waren, war die Sporangienmembran jetzt leicht zu unterscheiden. Dann folgt der Zustand der scharfen Abgliederung des Sporenplasmas vom Cytoplasma des Sporangiums. Die dichte Plasmaschicht, die um die jetzt dunkler erscheinende Sporenvakuole liegt, grenzt sich scharf nach außen ab, während sich zugleich eine helle Zone um die Spore bildet (Fig. 55 mit Jod, Fig. 51, 83 mit Methylenblau und Fig. 57 mit Fuchsin gefärbt). Dieses Stadium wurde auch an angetrockneten Präparaten untersucht (Fig. 89—91). Das auf ein Deckglas gestrichene, angetrocknete Material wurde so lange mit einer Methylenblaulösung (Wasser 6 : Methylenblau verd. 1) behandelt, bis ich den Zustand, der in Fig. 89 dargestellt ist, erhielt. In diesem Präparate war die junge Spore tiefer als das umgebende Sporangiencytoplasma gefärbt. Fig. 90 zeigt dieselbe Spore nach der Behandlung mit 80-proz. Alkohol und Fig. 91 dieselbe nach der Entfärbung und der nachfolgenden Behandlung mit schwachem Fuchsin. Nach letzterer Behandlung wurde die Sporangienmembran sichtbar. Bei einer 4. Sorte von Sporangien findet man die Sporen stark lichtbrechend. Jetzt sieht man bei entsprechender Färbung die Ecken der Membran, da die letztere die Farbstoffe leicht aufnimmt. Die Spore ist von einem deutlichen Hof umgeben. Fig. 77 bis 82 stellen die Beobachtungen an ein und demselben Diplococcus mit verschiedenen Reagentien dar. Fig. 77 in Wasser betrachtet. Fig. 78 mit Methylenblau (1 + 10) behandelt. Die Spore ist geschwollen, so daß der Hof nicht mehr sichtbar ist. Fig. 79 nach Entfärbung mit Alkohol. Fig. 80 mit so viel sehr schwachem Methylenblau (verd.) behandelt, daß das Sporangiencytoplasma schwach gefärbt wurde, ohne daß jedoch die Sporangienmembran unsichtbar geworden ist. Die Spore ist nicht gefärbt. Fig. 81 mit Jod gefärbt. Fig. 82 nach Entfärbung mit Wasser mit Fuchsin behandelt. Die Spore ist jetzt ganz reif, weitere Veränderung besteht in einem allmählichen Zerfall der Sporangienmembran, bis endlich die letztere, in Wasser betrachtet, nicht mehr sichtbar ist, aber doch sichtbar wird, wenn die Sporangien mit Reagentien behandelt werden.

(Fortsetzung folgt.)

---

# Die Wachstums- und Dauerformen der Strahlenpilze (Aktinomyceten) und ihre Beziehungen zu den Bakterien.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Straßburg.]

Von Prof. **E. Levy.**

Das Studium der Morphologie und Biologie der Strahlenpilze gestaltet sich für den Botaniker sowohl als auch für den Bakteriologen als ein überaus interessantes. Stellen doch gerade diese Mikroorganismen den Uebergang zwischen den Fadenpilzen und den Bakterien dar; gestatten sie infolgedessen wichtige Rück- und Ausblicke. In Bd. XXVI des Centralbl. f. Bakt. etc. habe ich zum ersten Male zusammenfassend über meine und meiner Schüler Untersuchungen auf diesem Gebiete berichtet. In Gemeinschaft mit Lachner Sandoval habe ich damals die Forderung aufgestellt, die Strahlenpilze nach dem Prinzip der Priorität als Aktinomyceten zu bezeichnen. Cohn[1]), der bekanntlich die erste Species der Strahlenpilzgruppe aus Konkrementen des menschlichen Thränenkanals züchtete, führte die Benennung Streptothrix ein. Allein so charakteristisch auch diese Nomenklatur ist, wir müssen sie fallen lassen, da sie bereits für einen anderen Pilz aus der Hyphomycetenfamilie der Dematiaceen vergeben war. Es bleibt also nichts anderes übrig, als auf den vom Botaniker Harz[2]), welchem Bollinger die in einem Kiefertumor beim Rinde gefundenen Pilze zur Untersuchung übergeben hatte, eingeführten Namen „Actinomyces" zurückzugreifen. Seit 1899, seit meiner ersten Publikation, habe ich die Aktinomycetenfrage teils selbst weiter verfolgt, teils durch meine Schüler verfolgen lassen. Wir haben zum Teil ganz neue, von unseren früheren Ergebnissen ganz abweichende Resultate erzielt, und insbesondere die Arbeit meines Schülers H. Neukirch[3]) hat uns wichtige Daten ergeben. Die Untersuchungen fanden an Actinomyces ochroleucus, einer neuen, von uns aus dem Boden gewonnenen Strahlenpilzspecies, statt. Gleichwie bei der Arbeit Lachner Sandoval's, die den Actinomyces albidoflavus betraf, verfolgten wir auch hier wieder das Prinzip, einen unschädlichen Repräsentanten zu wählen, der von einer Veränderung durch Parasitismus verschont geblieben war.

Der Boden stellt, wenn wir von den pathogenen Strahlenpilzen absehen, den Hauptstandort der Aktinomyceten dar. Hier finden sie Unterkunft auf den abgestorbenen Pflanzenteilen. Dagegen kommen sie nach den Ermittelungen von Rossi-Doria[4]) und Beijerinck[5]) auf

---

1) Cohn, Biologische Mitteilungen über Bakterien. (51. Jahresbericht d. Schles. Gesellsch. f. vaterländ. Kultur. 1874); Untersuchungen über Bakterien II. (Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. 1875. Heft 3.)

2) Harz, Actinomyces bovis, ein neuer Schimmel in den Geweben des Rindes. (Jahresber. d. Tierarzneischule München. 1877/78 u. Dtsch. Zeitschr. f. Tiermed. Suppl.-Heft. 1878.)

3) Neukirch, H., Ueber Strahlenpilze. (2. Folge, d. h. Fortsetzung der Arbeit von Lachner Sandoval [Dissertation der naturwissenschaftlichen Fakultät Straßburg 1902] u. als Monographie bei Ludolf Beust gedruckt.) Letztere enthält eine Zusammenstellung aller bisher beschriebenen Species der Aktinomyceten.

4) Rossi Doria, Su di alcune specie di Streptothrix trovate nell' aria. (Annali dell' Instituto d'igiene di Roma. Vol. I. 1891. Fasc. 4.)

5) Beijerinck, Ueber Chinonbildung durch Streptothrix chromogena und Lebensweise dieses Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900. No. 1.)

lebenden Pflanzen nicht fort. Vom Boden gelangen sie mit Leichtigkeit ins Wasser und ihre Sporen durch Vermittelung des Windes in die Atmosphäre. Wir züchteten eine ganze Reihe von Strahlenpilzen aus Erdproben. Man bedarf hierzu nicht der komplizierten, von anderen Autoren angegebenen Methoden; man fertigt ganz einfach Glyceringelatine- oder Glycerinagarplatten an und läßt dieselben im Keller bei einer Temperatur von 10—15° stehen. Man vermeidet so das Auskeimen der störenden Sporen aus der Gruppe der Futter- und Erdbacillen (Flügge), und die Strahlenpilze finden Zeit, ihre charakteristischen gewulsteten und gefurchten Kolonieen heranreifen zu lassen. Der Zusatz von Glycerin im Verhältnis von 2 Proz. zum Nährmateriale erweist sich für die Aktinomycetenkultur als ein sehr zweckmäßiger. Wir sehen also auch in diesem Punkte ein Verhalten, wie wir es analog bei den der Strahlenpilzgattung verwandten Bakterien, den Tuberkel-, Diphtherie- und Rotzbacillen, bereits seit lange kennen. Bei 12-proz. Glycerin kommt es noch zu einer kümmerlichen Entwickelung, bei 18 Proz. hört jedes Wachstum auf. Doch möchten wir betonen, daß bei den pathogenen Aktinomyceten der Zusatz von Glycerin selbst in ganz geringen Mengen, so günstig derselbe auch das Wachstum beeinflußt, doch auf die Virulenz erheblich schwächend einwirkt. Denselben Befund erhebt man ja auch bei den Glycerinagarkulturen der Tuberkelbacillen.

Betrachtet man unter dem Mikroskop das stark verzweigte Fädengewirr der Kolonieen, so unterscheidet man zunächst die vegetativen von den Dauerformen. Die vegetativen Fäden erscheinen straff und ungegliedert; in flüssigen Kulturen zeigen die in der Tiefe gewachsenen eine größere Breite als die an der Oberfläche. Die schmalen Fäden brechen das Licht stark, die breiten besitzen eine schmale, das Licht sehr deutlich brechende Außenschicht, das Außenplasma Neukirch's, und eine viel weniger das Licht brechende Innenschicht, das $^4/_5$ der Fadenbreite einnehmende Innenplasma Neukirch's. Die Existenz einer zarten Membran läßt sich beweisen, wenn man zu gut das Licht brechenden Fäden 1-proz. Kalilauge hinzufügt. Man vermag dann unter dem Mikroskop zu verfolgen, wie einzelne das Licht deutlich brechende Partieen austreten, und wie dieser Faden jetzt mit einem Schlage schwer sichtbar wird, sein Lichtbrechungsvermögen einbüßt. Das stark lichtbrechende Innere des Fadens ist also aus einer schwach lichtbrechenden Umhüllung herausbewegt worden.

Unterzog Neukirch die vegetativen Fäden der Plasmolyse, so blieb die Membran unverändert, das Protoplasma kontrahierte sich unregelmäßig und es kam zur Bildung von kleinen, meist quer, selten längs zur Richtung des Fadens stehenden Lücken.

Die vegetativen Fäden sind nun weiter nicht völlig homogen. Ihr Protoplasma führt bald in größerer, bald in kleinerer Zahl kleine, manchmal sehr kleine, gerade eben mit den besten Vergrößerungen sichtbare Körnchen, die noch intensiver das Licht brechen als das Außenplasma. Bei der Plasmolyse werden diese Gebilde verschoben, und da das ganze Protoplasma infolge der Zusammensetzung eine stärkere Lichtbrechung gewinnt, so verlieren sie entschieden an Deutlichkeit.

Zur Färbung der Aktinomyceten die gewöhnlichen Fixations- und Tinktionsmethoden heranzuziehen, war nicht angängig, man hätte einfach plasmolytische Erscheinungen bekommen (A. Fischer). Neu-

kirch färbte deshalb die lebenden Fäden mit einer schwachen, im durchfallenden Lichte nur himmelblau erscheinenden Methylenblaulösung. Das Außenplasma zeigte sich dunkelblau, das Innenplasma hellblau, die Körner tief dunkelblau. Auch die Färbung mit Jodjodkaliumlösung ergab interessante Bilder; die Membran wurde undeutlich hellgelb, das Außenplasma braun, das Innenplasma gelb und die Körner dunkelbraun. Zur Charakterisierung der Körner ist die Tinktion bisweilen unerläßlich. In auskeimenden Fäden verfügen sie nämlich nur über eine so minimale Größe, daß sie ohne Färbung nicht sichtbar sind.

Ueberhaupt beanspruchen die Körner noch in anderer Hinsicht unser Interesse. Sie vermehren sich nur in den wachsenden Teilen der Fäden und zwar geht, wie Neukirch in überaus mühseligen Untersuchungen konstatieren konnte, diese Vermehrung auf dem Wege der Teilung vor sich. Ein Körnchen streckt sich etwas in die Länge und nach einer halben Stunde sind bei Zimmertemperatur aus ihm zwei einander sehr nahe liegende Körnchen geworden, die später auseinanderrücken. Irgend welche Struktureigentümlichkeiten konnten bei diesen kleinen, an der Grenze des Sichtbaren liegenden Objekten nicht erkannt werden. Man sieht weiter immer ein Korn am äußersten wachsenden Ende des Fadens und dann an denjenigen Stellen, an welchen die Seitenastbildung vor sich geht. Das Protoplasma stülpt sich seitlich über einem im Hauptfaden sich befindlichen Körnchen aus; sobald der Seitenast gebildet, rückt das Korn in denselben hinauf. Darf man diese Körner echten Kernen gleichstellen? Ihre Vermehrung durch Teilung, ihre Beziehung zu Spitzenwachstum und Seitenastbildung[1]), ihre Affinität zu den basischen Anilinfarbstoffen, sie alle sprechen zu Gunsten einer derartigen Annahme. Gegen die Kernnatur lassen sich folgende Punkte anführen: das Fehlen jeglicher Struktur, die verschiedenartige Größe und das Vorhandensein von mehreren Körnern in den Dauerformen, den Sporen, auf die wir gleich zu sprechen kommen werden. Daß keine Struktur zu erkennen, haben wir bereits vorhin mit der unendlichen Kleinheit der Gebilde erklärt. Kerne mit wechselnder Größe trifft man auch sonst, z. B. bei Hefen; und schließlich beobachtet man Sporen mit mehr als einem Kerne bei einzelnen höheren Pilzen. Dieselben oder wenigstens ähnliche Körner sieht man ja auch bei den Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen; ihr Verhalten dient auch jetzt noch dazu, die Differentialdiagnose zwischen den legitimen Loeffler'schen Stäbchen und den sogenannten Pseudodiphtheriebacillen zu stellen. Es lag deshalb nahe, einmal nachzusehen, wie die Neisser'sche Doppelfärbung mit Methylenblau und Vesuvin auf die Actinomyces-Körner einwirkt. Man erhält dieselben Bilder wie bei den Diphtheriebacillen, sowohl wenn man im lebenden Zustande färbt, als wenn man vorher in der üblichen Weise fixiert.

Die Verzweigung der Aktinomyceten erscheint in der Regel als eine monopodiale und früher glaubte ich strenge daran festhalten zu müssen, daß die Strahlenpilze sich nur auf diese Weise verzweigten. Heute muß ich diese Ansicht zurücknehmen, da mein Schüler Neukirch echte Dichotomie, wenn auch selten, beim Actinomyces ochroleucus zu beobachten Gelegenheit hatte.

Die Dissertation Neukirch's zeitigte aber auch neue Gesichtspunkte in der Frage der Dauerformen der Strahlenpilze. Wir haben

1) Haberlandt, Physiologische Pflanzenanatomie. Jena 1896.

hier, wie bei den vegetativen Fäden, gleichfalls zu entscheiden zwischen dem Wachstume auf der Oberfläche der Kulturen und dem, welches in der Tiefe der Nährlösungen sich vollzieht. Im letzteren Falle bilden sich Dauerformen aus, die ganz und gar den Oïdiensporen der Botaniker gleichen. Auf der Oberfläche der Bouillonkulturen und im hängenden Tropfen dagegen geht die Entstehung der Dauerformen nach einem besonderen Vorgange vor sich, der bisher vorläufig nur bei den Aktinomyceten beschrieben worden ist. Wir meinen die Fragmentation, auf die zuerst Sauvageau und Radais[1]) die Aufmerksamkeit gelenkt haben. Im hängenden Tropfen wachsen die Strahlenpilzfäden während 2—5 Tagen. Dann teilt sich ihr bisher gleichmäßig das Licht brechende Plasma in längere Stücke von demselben Brechungsvermögen wie der frühere vegetative Faden, und in ganz kleine, zwischen den größeren jedesmal liegende Stückchen, die ihrerseits das Licht beinahe gar nicht beeinflussen. Der Faden ist also in Protoplasmastücke zerfallen, die zwischen sich verschwindend kleine Lücken, inhaltslose Fadenstrecken übrig lassen. Die lichtbrechenden Plasmastücke teilen sich häufig noch weiter und da sie sich hierbei nicht strecken, so kommt es zur Bildung von immer kleineren Fragmenten, die schließlich isodiametrisch werden. Ein der Fragmentation verfallener Faden sieht infolgedessen so aus, als ob er aus einzelnen Bacillen und Kokken zusammengesetzt sei, und das stellt ja das gewöhnliche Bild dar, welches die Strahlenpilze unter dem Mikroskope uns gewähren. Ueberträgt man die Plasmastücke in neues Nährmaterial, so sieht man sie auskeimen; wir haben also in ihnen Dauerformen vor uns und wir bezeichnen sie mit Neukirch am zweckmäßigsten als Fragmentationssporen. Dieselben verdanken, wie eben erwähnt, ihre Entstehung zunächst einer Teilung des Plasmas; sie ziehen sich aber dann noch etwas zusammen und bekommen als Abschluß gegen die kleinen Lücken eine Membran. Die Fragmentationssporen lassen sich wie die vegetativen Fäden plasmolysieren, die auskeimenden erhalten jedoch ihren Umriß, sie kontrahieren sich aber und werden viel stärker lichtbrechend. Das Außenplasma Neukirch's ist an den Fragmentationssporen scharf ausgeprägt. Die Körner treten nur nach der Färbung in die Erscheinung. Die Fragmentationssporen sind unbeweglich, sie zeigen bei der Auskeimung 1—3 an den Querstellen austretende Fäden. Die Fragmentation vermag alle Kategorieen von Fäden heimzusuchen, der Vorgang ist ein simultaner oder, was sich noch häufiger ereignet, ein rasch succedaner.

In der Tiefe der Nährlösungen trifft man, wie bereits wiederholt betont, die breiteren Strahlenpilzfäden. Sobald das Längenwachstum aufhört, zerfallen einzelne unter diesen durch Bildung von Querwänden in eine Anzahl von Sporenzellen, von Oïdiensporen. Daß es sich in der That um Dauerformen handelt, läßt sich durch die Beobachtung der Auskeimung nachweisen. Die Oïdiensporen sind länglich, jedoch von ungleicher Größe, bisweilen sah sie Neukirch etwas angeschwollen. Diese nachträgliche Anschwellung betrifft jedoch nicht alle Oïdiensporen ein und desselben Fadens, sondern immer bloß einen Teil derselben. Die Oïdiensporen führen Körner; ihr Außenplasma ist leicht auch an den Querwänden zu erkennen. Die angeschwollenen Exemplare zeigen bei der Plasmolyse eine Kontraktion sowohl ihres Plasmas als auch ihrer

1) Sauvageau et Radais, Sur les genres Cladothrix, Streptothrix et Actinomyces. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VI. 1892.)

Membran, die anderen verhalten sich wie die Mehrzahl der ausgewachsenen Fäden. Manche Oïdiensporen, in der Regel solche, die nur noch schwach das Licht brechen und feinkörnig granuliert sind, reagieren auf die Plasmolyse nicht. Diese Gebilde haben aber auch die Fähigkeit eingebüßt, in neuen Nährlösungen auszukeimen, sie sind mit der Länge der Zeit abgestorben. Durchsucht man mit Neukirch den Bodensatz von alten Flußwasserkulturen, so sieht man in sonst leeren Fäden bisweilen fertile Riesengebilde, also Riesenoidien, die bis 6mal die Breite der normalen Fäden aufweisen.

Neukirch untersuchte dann noch die Einwirkung der feuchten Hitze auf den Actinomyces ochroleucus, und da stellte es sich heraus, daß die Fragmentationssporen in 5 Minuten bei 70⁰ abgetötet wurden, während der Bodensatz mit seinen Fäden und seinen Oïdiensporen bereits bei 60⁰ nach derselben Zeit zu Grunde gingen. Es wäre wichtig gewesen, die Oïdiensporen noch getrennt von den vegetativen Formen der Hitzeprüfung zu unterziehen, es ist jedoch vorläufig unmöglich, Material zu erhalten, das nur vegetative Elemente aufgewiesen hätte. Jedenfalls besitzen die Fragmentationssporen eine erheblichere Widerstandsfähigkeit als die Oïdiensporen. Letztere dienen auch nur dazu, in ganz untergetauchtem Zustande die Art zu erhalten. Das Eintrocknen überstehen sie, wie Neukirch gezeigt, nicht. Einzelne Aktinomycetenspecies scheinen über Dauerformen zu verfügen, die gegenüber der Hitze sich viel resistenter erweisen. Acosta und Grande Rossi[1]) wollen einen Strahlenpilz unter Händen gehabt haben, den Invulnerabilis, den sie durch diskontinuierliche Sterilisation bei 100⁰ nicht zu vernichten vermochten und der erst bei 130⁰ sich abgestorben zeigte. Mein Schüler Lachner Sandoval[2]) fand beim Actinomyces albido-flavus die vegetativen Fäden nach 3 Minuten bei 70⁰, die Sporen erst nach 5 Minuten bei 85⁰ abgetötet. Auch die Dauerformen des Actinomyces madurae von Vincent[3]) gehen erst nach 3 Minuten bei 85⁰ zu Grunde, die vegetativen Formen dagegen bereits bei 60⁰. Die Sporen des klassischen aëroben Actinomyces bovis sterben nach Domec[4]) durch 5 Minuten langes Einwirken von 75⁰, die Fäden in derselben Zeit bei 60⁰ ab.

Wenn man von dem Actinomyces invulnerabilis Acosta's und Grande Rossi's absieht, bei welchem mir jedoch die Erhitzungsversuche nicht völlig einwandsfrei zu sein scheinen, so haben wir bei den Strahlenpilzen Dauerformen vor uns, die mit den klassischen Sporen der Bacillen nicht auf eine Stufe gestellt werden dürfen. Dazu sind sie viel zu wenig resistenzfähig gegenüber der Einwirkung der feuchten Hitze. Nichtsdestoweniger müssen wir an der Bezeichnung Sporen festhalten, wir wollen damit ausdrücken, daß diese Gebilde dazu ausersehen sind, die Art zu erhalten, weil sie eben die Fähigkeit besitzen, in neuen Nährlösungen wieder auszukeimen. Eine andere Frage ist aber die, ob nicht zum mindesten die den Aktinomyceten verwandten Bakterien, die Gruppe

1) Acosta y Grande Rossi, Descripcion de un nuevo Cladothrix. (Cronica médic-quirurgic de la Habana. Refer. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. 1895. No. 14.)

2) Lachner Sandoval, Ueber Strahlenpilze. [Dissertation Straßburg, 1898 u. Monographie, erschienen bei Ludolf Beust.]

3) Vincent, Etude sur le parasite du pied de madura. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VIII. 1894.)

4) Domec, Contribution à l'étude de la morphologie de l'actinomycose. (Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. T. IV. 1892.)

der Tuberkel-, Diphtherie- und Rotzbacillen über ähnliche Dauerformen, Sporen, wie die Strahlenpilze verfügen. Dies zu entscheiden, behalte ich mir für eine weitere Untersuchungsreihe vor. Bevor ich aber dieser Aufgabe mich zuwandte, wollte ich zunächst diese Verhältnisse an den leichter zugänglichen Aktinomyceten klargestellt wissen. Ich halte es eben für einen unschätzbaren Vorteil, wenn man für das Studium so kleiner und noch so wenig erforschter Formen gut untersuchte Paradigmata zur Verfügung hat. Und die Aktinomyceten haben meines Erachtens so viel Berührungspunkte mit den Erregern der Tuberkulose, der Diphtherie und des Rotzes, daß man sie auch in den Fragen der Kern- und Sporenbildung heranziehen darf.

Eine Menge von epidemiologischen Thatsachen liegt vor, die uns zu der Annahme geradezu zwingt, daß einzelne Infektionserreger, welche über die sogenannten klassischen Sporen nicht verfügen, doch Dauerformen — eben anders geartete — besitzen müssen. Hueppe[1]) und de Bary[2]) haben sich bereits vor mehreren Jahren auf Grund ihrer bakteriologisch-botanischen Untersuchungen auf diesen Standpunkt gestellt. De Bary nennt die klassische, im Inneren der vegetativen Zellen stattfindende Sporenbildung „endogene“, die Bakterien, welche dieselbe aufweisen, „endospore“ Bakterien. Er stellt ihnen scharf seine „arthrosporen“ Bakterien gegenüber und will mit diesem Namen ausdrücken, daß einzelne losgetrennte Glieder des Verbandes die Eigenschaft von Sporen annehmen können. Hueppe sprach sich später gleichfalls zu Gunsten der Bezeichnung Arthrosporen aus, er wollte aber nur die Einschränkung gemacht wissen, daß diese Dauergebilde nicht in jeder beliebigen Form der Einzelzellen auftreten. Diese Anschauung von de Bary und Hueppe hat dann in der Folgezeit sehr viele Widersacher gefunden und selbst Migula, der die bekannten Vorlesungen de Bary's „Ueber Bakterien“ in dritter Auflage durchgesehen und teilweise neu bearbeitet hat, bekennt sich als ein Gegner der Arthrosporenbildung. Geklärt ist jedenfalls die ganze Lehre der Dauerformen bei den Bakterien noch nicht, und es verlohnt sich entschieden der Mühe, diese Frage einer erneuten Untersuchung zu unterziehen.

---



# Zur Frage der morphologischen und biologischen Charakterisierung des Meningococcus intracellularis.

Von Prof. **H. Jaeger** in Königsberg i. Pr.

Ein aus Weichselbaum's pathologisch-anatomischem Institut hervorgegangener und in der Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 41 erschienener Aufsatz: „Ueber die Aetiologie und pathologische Anatomie der Meningitis cerebrospinalis epidemica“, welcher Weichselbaum's Assistenten Albrecht und Ghon zu Verfassern hat, nötigt mich, zu diesem Gegenstand nochmals Stellung zu nehmen, obgleich ich gedacht

1) Hueppe, Die Formen der Bakterien. Wiesbaden 1886 u. Naturwissenschaftliche Einführung in die Bakteriologie. Wiesbaden 1896.

2) de Bary, Vorlesungen über Bakterien. 1. Auflage. Leipzig 1885. — 2. Auflage. 1887.

hatte, durch mein kürzlich erschienenes Buch[1]) den gegenwärtigen Stand der Frage der Epidemiologie und Aetiologie der Genickstarre für einige Zeit ausreichend gekennzeichnet zu haben.

Leider hat sich die erwähnte Abhandlung mit dem Erscheinen meines Buches gekreuzt; sie ist mir von den Herren Verfassern zu der Zeit zugegangen, als ich eben die ersten Exemplare meines Buches in die Hände bekommen hatte. Vielleicht wäre der Aufsatz, wenn mein Buch etwas früher erschienen wäre, ungeschrieben geblieben.

Nachdem durch meine Arbeit „Zur Aetiologie der Meningitis cerebrospinalis epidemica" (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XIX. 1895) der damals schon seit Jahren ins Meer der Vergessenheit versunkene Diplococcus Weichselbaum wieder ans Licht gebracht und seine ätiologische Bedeutung gerade durch sein Auftreten bei einer typischen Epidemie erstmals durch mich erkannt war, bringt die Arbeit von Albrecht und Ghon die Behauptung, daß die von mir damals gefundenen Organismen mit denjenigen Weichselbaum's nicht identisch seien, daß die Verff. selbst aber in einer Reihe von Fällen den echten Weichselbaum'schen Coccus gefunden haben. Um diese Behauptung zu stützen, gehen sie so vor, daß sie bei dem nach dem übereinstimmenden Urteil zahlreicher Forscher — ich nenne u. a. nur C. Fraenkel — etwas variierenden Coccus einige Artmerkmale herausgreifen, welche sie willkürlich für kanonisch erklären, diejenigen Kokken aber, welchen diese kanonischen Merkmale fehlen, für unecht angesehen wissen wollen. Diesem Dogma werden nun nicht bloß meine Befunde bei der großen süddeutschen Militärepidemie geopfert, sondern nicht minder auch die von Heubner bei der Berliner Epidemie von 1896 gemachten Beobachtungen; auch dort soll nicht der „echte Weichselbaum" gefunden worden sein.

Aber die Acceptierung der durch mich (am unechten Coccus??) festgestellten Thatsache, daß der Diplococcus intracellularis gerade für die epidemische Meningitis und ihren Erreger charakteristisch ist, wird nicht verschmäht; vielmehr suchen sich die Autoren einige Epidemieen aus — und zwar mit die bedeutendsten, so namentlich die von Councilman beschriebene Epidemie in Boston — und erklären die dortigen Kokken für echt.

Worauf gründet sich nun diese Unterscheidung zwischen den echten und den unechten Kokken?

Verff. zählen als wesentliche und ihren Coccus gegenüber anderen charakterisierende Merkmale die folgenden auf: „1) Kokken vom Typus des Micrococcus gonorrhoeae mit Teilung in zwei aufeinander senkrechten Richtungen, immer Gram-negativ, reichlich Degenerationsformen bildend und häufig intracellulär gelagert. 2) Wachstum nur bei höheren Temperaturen. 3) Kolonieen auf der Agarplatte im allgemeinen üppig, häufig gebuchtet, meist viscid, grauglänzend im auffallenden, grau bis grauweiß im durchfallenden Lichte. 4) Ausschließliches oder fast ausschließliches Oberflächenwachstum in Agarstichkulturen. 5) Kahmhautbildung in Fleischbrühekulturen. 6) Geringe Pathogenität für unsere gebräuchlichen Versuchstiere und 7) Geringe Lebensfähigkeit."

Untersuchen wir nun weiter, wie sich diese 7 Merkmale zu den Beschreibungen, wie ich und wie verschiedene andere Forscher sie gegeben haben, verhalten.

---

1) Jaeger, H., Die Cerebrospinalmeningitis als Heeresseuche. Bibliothek von Coler. Herausgegeben von O. Schjerning. Berlin (A. Hirschwald) 1901.

Zu 1. „Kokken vom Typus des Micrococcus gonorrhoeae mit Teilung in zwei aufeinander senkrechten Richtungen.“ Ich bin der erste gewesen, der gerade auf Grund der Aehnlichkeit mit dem Gonococcus die grundsätzliche Artverschiedenheit des von Weichselbaum beschriebenen Diplococcus intracellularis vom Pneumococcus Fraenkel mit aller Schärfe betont hat und ich habe jetzt wieder in meinem Buche die Thatsache, daß der Meningococcus sich durch seine Teilung in zwei aufeinander senkrechten Richtungen des Raumes dem Gonococcus an die Seite stellt, ausführlich abgehandelt; ich verweise hier auf die p. 114—125, woselbst ich eben dieses Wachstumsgesetz als wesentliches Abgrenzungsmerkmal gegen den Pneumococcus hervorhebe und (p. 122) bildlich schematisch veranschauliche. p. 121 sage ich: „Sonach haben wir unseren Coccus auch nach den Bildern, welche wir aus der Reinkultur erhalten, zu den Meristen zu rechnen und zwar würde er hier zwischen dem Gonococcus und dem Staphylococcus stehen.“

Schon 2 Jahre vor Erscheinen der Arbeit von Albrecht und Ghon habe ich in einem Vortrage gegen die Einreihung des Meningococcus unter die Streptokokken Stellung genommen und seine Zugehörigkeit zum Staphylokokkentypus hervorgehoben. Obwohl nun die Herren Albrecht und Ghon diese meine Mitteilung selbst citieren, behaupten sie an derselben Stelle, daß meine Beschreibung von allen (nach meiner Arbeit von 1895 erschienenen!) abweicht! Beweis dafür soll sein, daß ich 1895 in zweien meiner 14 Fälle (nicht 10, wie die Verff. fälschlich angeben!) das Kuriosum langer Ketten gefunden habe. Sie müssen „in Uebereinstimmung mit einer Reihe von Autoren das Auftreten langer Ketten als völlig unvereinbar mit dem Diplococcus intracellularis meningitidis erklären.“ Ich kann den Herren Albrecht und Ghon nur empfehlen, die schon citierte Darstellung dieser die Systematik betreffenden Verhältnisse auf p. 121—123 meines Buches zu studieren, wo sie unter anderem auch finden werden, daß auch Kamen, Heubner, Osler, Faber u. A. solche Kettenbefunde registriert haben. Alle aber haben an diesen Ketten die Merkmale der beginnenden Teilung nach der zweiten Richtung des Raumes, auf welche zum ersten Male ich aufmerksam gemacht habe, in Gestalt einer Teilungslinie in der Längsrichtung der Kette oder ausgebildeter Bruchstücke von Parallelketten beobachtet. Haben denn die Herren Ghon und Albrecht sich die Photogramme von mir und von Kamen nicht angesehen, bevor sie sich überlegten, was sie schreiben wollten?

Albrecht und Ghon schließen also aus einer von mir als Kuriosum beschriebenen und charakterisierten Wachstumsabnormität, welche bei meinen Kokken in zwei vereinzelten Fällen auftrat, daß mein Coccus „ein vom Diplococcus intracellularis meningitidis abweichendes Verhalten zeigt.“ — Es beschreibt der Afrikareisende A eine wilde Völkerrasse, der Reisende B beschreibt dieselbe später auch und erzählt dabei: „Ich habe unter diesem Volke auch 2 Bucklige gefunden.“ Nun kommt A und sagt: bei diesem Volke giebt es keine Buckligen, also ist B gar nicht dort gewesen. Diese Methodik der Schlußfolgerung zieht sich durch die ganze Schrift der Herren Albrecht und Ghon!

Ich komme nun zum zweiten Teil des ersten Punktes: „immer

Gram-negativ. Auch dieser war von mir schon vor Erscheinen der Arbeit von Ghon und Albrecht im meinem Buche erledigt. Dort citiere ich (p. 126) aus meinen Protokollen vom 13. Febr. 1893 folgenden Satz: „Bei Anwendung der Gram'schen Färbung entfärben sich die intracellulären Kokken der Gewebsausstriche. Die Diplokokken aus den Kulturen werden gleichfalls — wenigstens die meisten derselben — entfärbt.“ Fast wörtlich ebenso äußert sich Pfaundler: „Nach Gram und Weigert findet man sie (die Kokken) oft im gleichen Präparate teils gefärbt, teils ungefärbt.“ Von 5 Fällen erhielt Pfaundler bei dreien positive, bei zweien negative Gram-Färbung. Ich komme l. c. dann zu dem Schlusse, daß, je schonender man die Gram'sche Färbung vornimmt, man um so eher nach Gram gefärbt gebliebene Meningokokken zu sehen bekommt. Es kommt eben, wie Kruse (in Flügge's Lehrbuch) sehr richtig sagt, bei der Gram'schen Färbung alles auf die Methode an, und so besteht heute die auch von C. Fraenkel präcisierte Auffassung zu Recht, daß der Meningococcus hinsichtlich der Gram'schen Färbung eine Mittelstellung einnimmt. Wenn also Albrecht und Ghon behaupten, daß zweifelhafte Bilder nur bei unrichtiger Ausführung der Färbemethode oder bei ungleichmäßig dick bestrichenen Präparaten entstehen, so vergessen sie, indem sie ihre eigene Technik für vollkommener halten als die unserer namhaftesten Forscher, daß bei der Gram'schen Färbung eine chemische Reaktion eintritt. Es wird also derjenige, welcher in seinen Präparaten Gram-positives Verhalten bei Entfärbung der Zellkerne sieht, im Recht sein, wenn er solche Färbung als ausschlaggebend bezeichnet. Entfärben kann man schließlich jedes, auch noch so gut nach Gram gefärbtes Präparat!

Und auf so schwachen Grund bauen Albrecht und Ghon ihre Lehre, daß bloß ein einziger, ganz unvariabler Stamm der Meningokokken der echte sei. Wo bleibt da das ewige biologische Gesetz der Variabilität, das auch die Koch'sche Schule strengster Observanz anerkennt?

Der dritte Passus des ersten Satzes: „reichlich Degenerationsformen bildend und häufig intracellulär gelagert“ bietet mir keinen Anlaß zu einer Bemerkung, da hierin ja Uebereinstimmung zwischen meiner Beschreibung und derjenigen Weichselbaum's besteht.

Ich wende mich zu Punkt 2 „Wachstum nur bei höherer Temperatur“. Auch hier muß ich auf meine Monographie verweisen, die diesen Punkt schon geklärt hat, bevor der Versuch gemacht war, durch willkürliche Ziehung einer Demarkationslinie bei einer bestimmten Wachstumstemperatur einen echten von einem falschen Coccus Weichselbaum zu unterscheiden. Ich sage bei Besprechung der scheinbar so großen Variabilität unserer Kokken p. 126 folgendes: „Wir sehen den Angaben, wonach dieselben nicht bloß auf Brüttemperatur angewiesen sind, sondern sogar mit frischem Menschenblut bestrichenes Serum beanspruchen, solche gegenüberstehen, nach welchen unsere Kokken selbst bei Zimmertemperatur auf Gelatine und Kartoffeln wachsen! Das ändert sich aber sofort, wenn wir fragen: Ist jemals die Züchtung aus dem frischen Materiale (Leichenteile oder Punktionsflüssigkeit) auf Gelatine oder Kartoffeln bezw. bei Zimmertemperatur gelungen? Ich selbst habe auf diese Weise niemals Kulturen erhalten und ich habe vergeblich in der Litteratur nach einer dahingehenden Mitteilung gesucht. Meine eigenen Beobachtungen über Wachstum der

Kokken bei Zimmertemperatur auf Gelatine oder Kartoffeln beziehen sich ausnahmslos auf schon länger gezüchtete, an künstliche Nährsubstrate gewöhnte Kulturen. Wir finden ferner mehrfach die Beobachtung verzeichnet, daß bei anfänglich sehr spärlichem, auf Brüttemperatur angewiesenem Wachstum eine Anpassung durch üppigeres Wachstum und auf weniger komplizierten Nährböden sich kundgiebt." Ich habe dem jetzt noch hinzuzufügen: Meine sämtlichen in Stuttgart gewonnenen Kulturen waren auf Agar oder Glycerinagar bei Brüttemperatur gezüchtet. Daß mir die am wenigsten resistenten abstarben und nur die resistenteren und anpassungsfähigeren für spätere biologische Untersuchungen in den Händen blieben, ist natürlich.

Eine Anpassung an Temperaturen unter 37° müssen aber Albrecht und Ghon selbst ausdrücklich zugeben; nur setzen sie die Wachstumsgrenze auf 25—27° an, während ich dieselbe (p. 129) auf 22° angebe. Diese Differenz wird aber niemand als wesentlich für die Artabrenzung anerkennen wollen!

Hinsichtlich des Punktes 3 „Kolonieen auf der Agarplatte" habe ich nichts Wesentliches zu bemerken, es sei denn, daß ich so üppig wachsende Kolonieen, wie sie geschildert werden, im allgemeinen nicht beobachtet habe und daß ich erstaunt war, zu lesen, daß bei so kräftigem Wachstum die Kulturen eine so abnorm geringe Lebensfähigkeit besitzen sollen, wie Albrecht und Ghon sie angeben. Ich verweise im übrigen auf meine Monographie p. 128—136, sowie auf die unten folgenden Mitteilungen meiner weiteren Beobachtungen.

Punkt 4 „Ausschließliches oder fast ausschließliches Oberflächenwachstum in Agarstichkulturen" kann ich nicht bestätigen, halte diesen Punkt aber für belanglos.

Punkt 5 „Kahmhautbildung in Freischbrühekulturen". Mit der Behauptung, daß Kahmhautbildung zu den charakteristischen Merkmalen der Meningokokken gehöre, stehen Albrecht und Ghon ganz isoliert. Wie meine Tabelle p. 128—131 zeigt, ist diese Erscheinung nicht einmal von denjenigen Forschern beobachtet worden, deren Untersuchungen vor den Augen der Herren Albrecht und Ghon Gnade gefunden haben. — Doch ich komme darauf nochmals zurück.

Punkt 6 „Geringe Pathogenität für die gebräuchlichen Versuchstiere" ist von jeher von allen Untersuchern übereinstimmend konstatiert worden, einerlei, ob sie mit dem kanonischen oder mit einem ketzerischen Coccus gearbeitet haben.

Punkt 7 „Geringe Lebensfähigkeit". Es würde schon von vornherein epidemiologisch unverständlich sein, daß das Virus der epidemischen Genickstarre eine geringe Lebensfähigkeit besäße, daß dasselbe insbesondere Kälte und Austrocknen schlecht ertragen könne. Die Beobachtungen, wie Heereszüge die Krankheit über Länder und Meere verschleppt haben, wären ganz selbstverständlich, wenn wir uns den Infektionsstoff (dem ja sicher auch die Vermehrung außerhalb des Körpers gleichfalls versagt ist) so fragil vorzustellen hätten, wie etwa den Gonococcus. — Doch ich will auf meine schon früher mitgeteilten Beobachtungen, wonach Kulturen 3 Monate und meningitischer Eiter 4 Monate lang lebensfähige Kokken enthielten, nicht noch einmal näher eingehen, sondern mich damit begnügen, nunmehr von meinen eigenen Studien am „Coccus Weichselbaum" zu berichten.

Im Februar 1901 bat mich Herr Professor Weichselbaum, ihm einen Stamm der von mir isolierten Kulturen zu senden, da er beab-

sichtige, Studien über den Diplococcus intracellularis meningitidis nebst einer kritischen Besprechung aller einschlägigen Arbeiten zu veröffentlichen. Darauf sandte ich demselben 3 Kulturen, die eine stammte von einem meiner Stuttgarter Fälle, die zweite war von mir aus einem Berliner Falle isoliert und die dritte hatte Plagge aus der Darmstädter Militärepidemie gezüchtet.

Ich bat gleichzeitig Herrn Prof. Weichselbaum ebenfalls um Ueberlassung einer seiner Kulturen. Am 28. März 1901 stellte mir derselbe eine Kultur in Aussicht, wenn wärmeres Wetter sei, da die Kultur sonst zu Grunde gehe. Um die Mitte April 1901, während ich in Berlin beim Kongreß für innere Medizin war, traf die Kultur ein. Als ich nach wenigen Tagen zurückkam, untersuchte ich die Kultur und impfte von derselben ab, sie war aber abgestorben. Andere Arbeit drängte sich dazwischen, und erst im Februar 1902, nachdem die Arbeit von Albrecht und Ghon erschienen war, versuchte ich, mir diesmal von Král die Weichselbaum'sche Kultur zu verschaffen. Ich erhielt dieselbe sofort zugeschickt, aber auch diese Kultur erwies sich als abgestorben. Auf diesbezügliche Mitteilung an Herrn Král erhielt ich alsbald eine neue Kultur, mit einem Begleitschreiben, welches ich nachstehend im Wortlaute wiedergebe: „Ich habe sofort nach Erhalt Ihres Schreibens vom 20. Februar eine Kultur des Meningococcus Weichselbaum angelegt und sende sie Ihnen anbei, nachdem sie 22 Stunden im Brütschranke verbracht hat und gute Entwickelung zeigt; mehr kann ich nicht thun! Die Kultur wird voraussichtlich wieder abgestorben eintreffen, denn wenn die Vitalitätsdauer des Meningococcus Weichselbaum, bei 37° gehalten, auch 15—25 Tage nach meinen Erfahrungen beträgt, so unterliegt er andererseits niederer Temperatur sehr rasch."

Das mikroskopische Bild, welches Ausstrichpräparate dieser neuen Kultur aus Král's Laboratorium darboten, war ebensowenig Vertrauen erweckend, wie das aus der ersten, sowie aus der von Weichselbaum direkt erhaltenen Kultur: fast ausschließlich nicht mehr färbbare Kokken. Doch fanden sich, im Gegensatze zu den beiden abgestorbenen Kulturen, noch ganz vereinzelte, gut gefärbte und wohlgeformte Diplokokkenexemplare.

Von dieser Kultur wurden jetzt Abimpfungen vorgenommen auf: Agar, Glycerinagar, Bouillon, Loeffler'sches Serum und auf Pleuraexsudat. Sämtliche Abimpfungen blieben steril bis auf 2, nämlich diejenige auf erstarrtem Pleuraexsudat und die auf Loeffler's Serum. Aber auch auf diesen beiden Nährsubstraten zeigten sich erst nach 4 Tagen spärliche Kolonieen.

Als nach 8 Tagen noch immer alles steril geblieben war, wurden von der von Král bezogenen Originalkultur nochmals Abimpfungen auf Bouillon und auf erstarrtes Menschenblutserum vorgenommen. Auf dem letzteren waren schon nach 24 Stunden zahlreiche, aber noch sehr zarte Kolonieen aufgegangen. Auch in der Bouillon zeigte sich diesmal etwas Wachstum, wenn auch noch sehr kümmerlich.

Nunmehr wurden von der Kultur auf Menschenblutserum neue Abimpfungen vorgenommen auf Bouillon, Glycerinagar, Glycerinserum, Pleuraexsudat und menschliches Blutserum (Platten).

Diesmal stellte sich schon nach 24 Stunden auf sämtlichen Nährsubstraten Wachstum ein, und zwar sehr üppig auf Menschenblutserum, üppig auf Glycerinagar und Agar, ziemlich

reichlich auf Bouillon, gut auf Loeffler-Serum und kümmerlich auf (dem etwas trockenen) Glycerinserum.

Von nun ab bot sich der Weiterzüchtung keine Schwierigkeit mehr und bald konnte ich die mir von Weichselbaum sowohl als von Král gegebene Mahnung, die Kulturen im Brütschranke zu halten, außer acht lassen. Meine Vermutung, daß es sich bei dem echten Coccus Weichselbaum um künstlich „verpäppelte“ Kulturen handle, die „vor Kälte und Zug zu schützen“ seien, bestätigte sich immer mehr.

Das wurde auch klar aus dem färberischen Verhalten: Während die ersten ziemlich gut gewachsenen Kulturen auf Loeffler-Serum, Menschenblutserum und Bouillon sich äußerst schwach färbbar erwiesen (am leidlichsten noch mit Karbolfuchsin unter Erwärmen!), färbte sich schon die nächste Generation kräftig mit Methylviolett.

Als ich so in den Besitz lebenskräftiger Kulturen gelangt war, deren Individuen sich alle gleichmäßig rasch und intensiv mit Methylviolett tingierten und die auch die nun schon so oft beschriebenen Semmel- und Tetradenformen darboten, griff ich nochmals zum Plattenverfahren, teils um durch Darbietung reichlicher Flächen von Nährsubstrat und reichlichen Sauerstoffes das Wachstum noch weiter zu kräftigen, dann aber auch, um mich über etwaiges Variieren in Bezug auf morphologisches und namentlich färberisches Verhalten zu orientieren.

Dabei stellte sich nun — es waren gewöhnliche Agarplatten benutzt worden — eine interessante Erscheinung des Variierens ein. Zwar waren alle Kolonieen noch zart, schleierartig, von geringem Umfange (ca. 0,2 mm), doch zeigte ein Teil derselben, etwa die eine Hälfte, einen kreisrunden, die übrigen einen leicht gewellten Rand. Die kreisrunden Kolonieen bestanden aus Diplokokken und Tetraden in Staphylokokken-ähnlichen Haufen; dazwischen zahlreiche, besonders große Kokkenpaare, wie man sie ja schon längst kennt und die als Involutionsformen zu deuten sind. Die gewellten Kolonieen dagegen erwiesen sich als aus typischen Doppelketten bestehend in der Anordnung, wie ich sie schon 1895 gesehen und photographisch abgebildet habe; nur waren in diesen Kolonieen die Doppelketten vielfach in langen Reihen nebeneinander her gleichmäßig ausgebildet.

Beim Weiterzüchten dieser Kettenkulturen ging dann die Ausbildung der Doppelketten immer mehr zurück, so daß sich völlig das Bild gewöhnlicher Streptokokken entwickelt zu haben schien, würde nicht sehr häufig das Ende der Ketten sich, in ein Konvolut von Tetraden übergehend, gezeigt haben, die oftmals in größere, Staphylokokken-ähnliche Häufchen sich zusammenlegten.

Dieser Stamm aus der Kultur des Weichselbaum'schen Coccus hat bisher seinen „Streptokokkentypus“ beibehalten. Wir haben es also jetzt mit einer Varietät zu thun, welche ihre Eigenschaft, das Wachstum nach einer zweiten Richtung des Raumes nur noch spurweise zur Geltung zu bringen, behalten hat.

Ich muß bei dieser Gelegenheit nochmals auf die früher schon vielfach besprochene Längsteilung der Ketten zurückkommen. Zwar habe ich diese bei den Weichselbaum'schen Kokken nicht so deutlich wahrnehmen können wie bei einzelnen meiner früheren Kulturen. Dagegen konnte bei den einzelnen Gliedern der Kette an den Konturen

schon die Andeutung der Tetradenform (wie je 2 zusammengebackene Semmeln) wahrgenommen werden.

Die oben erwähnten Kolonieen mit kreisrundem Rande, welche, wie gesagt, ganz den Staphylokokkentypus darboten, zeigten bei wiederholter Plattenaussaat auch ihrerseits nochmals Variation. Es kamen nämlich neben zarten, schleierartig den Nährboden deckenden auch dicke, weiße Kolonieen von lackartigem Glanze zur Entwickelung. Bei erneuter Plattenübertragung dieser dicken, sowie der zarten Kolonieen kamen von beiden Varietäten wiederum sowohl zarte als dicke Kolonieen zur Entwickelung. Als ein drittes Mal dieser Versuch gemacht wurde, kamen zwar allmählich etwas mehr Uebergänge zustande, doch blieb der Unterschied deutlich genug, so daß ich später aus der Weichselbaum-Kultur 3 Stämme in Händen hatte, die ich bezeichne als:

1) Weichselbaum-Staphylokokkentypus dick,
2) „ „ zart,
3) „ Streptokokkentypus.

Diese Stämme wurden nunmehr auf Agar, Glycerinagar und (nach der Empfehlung Councilman's) auf Loeffler'schem Serum weiter gezüchtet, und da sich dabei herausstellte, daß sie — ebenso wie meine anderen Stämme — auf diesem Nährsubstrat am üppigsten wuchsen, dasselbe von jetzt ab für alle Stämme beibehalten.

Diese 3 Stämme wurden nun einer vergleichenden Untersuchung unterworfen, um in erster Linie über ihr Verhalten gegen die Gram-sche Färbung, 2) ihre Widerstandskraft gegen Kälteeinwirkung und 3) ihre Dauerfähigkeit in eingetrocknetem Zustande Aufschluß zu erhalten. Zu dieser Untersuchung benutzte ich 4) einen Abkömmling meiner Stuttgarter Kulturen, 5) eine kürzlich von Král bezogene Kultur meiner Kokken, 6) bis 8) drei von Plagge in Darmstadt isolierte Kulturen, 9) eine von mir aus einem Berliner Falle isolierte Kultur, also im ganzen 9 Kulturen.

Das Wachstum auf künstlichen Nährsubstraten bot nunmehr bei allen diesen Kulturen durchaus keine nennenswerten Unterschiede mehr dar, namentlich wichen die Weichselbaum-Kulturen nicht von den übrigen ab: Alle Kulturen waren jedesmal nach 24 Stunden im Brütschranke auf Loeffler-Serum gut gewachsen; sie wurden sämtlich von da an bei Zimmertemperatur gehalten und jede Woche einmal umgezüchtet, wobei keinerlei Störung eintrat.

Morphologisch erwiesen sie sich nicht anders voneinander abweichend, als schon besprochen. Der Stamm „Weichselbaum-Streptokokkentypus" war aber der einzige, der lange Ketten bildete; bei allen anderen fanden sich höchstens einige kurze Kettchen vor.

Die Färbung mit Methylviolett nahmen die Präparate aus sämtlichen Kulturen gleich willig und intensiv auf.

Ich komme jetzt zum Hauptpunkte: dem Verhalten der Weichselbaum'schen Kokken gegen die Gram'sche Färbung, denn auf diesen stützen die Herren Albrecht und Ghon den anzen Aufbau ihrer Angriffe.

Schon als ich die ersten Kulturen auf ihre Färbbarkeit mit den gewöhnlichen Anilinfarben untersuche, war mir sofort wahrscheinlich, daß so kümmerlich gewachsene Organismen, von welchen immer nur ein Teil überhaupt färbbar war, die Gram'sche Färbung nicht überstehen würden und allerdings wurden diese ersten Kulturen bei der Gram-schen Methode entfärbt. Das änderte sich aber mit jeder weiteren Um-

züchtung, und je kräftiger die Kulturen wuchsen, je stärker sie sich mit den gewöhnlichen Färbemitteln tingierten, um so mehr kamen in den Präparaten Individuen zum Vorscheine, welche nach Gram gefärbt blieben. So erhielt ich schließlich bei allen vergleichend untersuchten Stämmen fast völlig übereinstimmende Resultate, dahingehend, daß in einem und demselben Ausstrichpräparate gefärbt gebliebene mit entfärbten Kokken in ungefähr gleicher Anzahl vorhanden waren. (Daß ich hierbei nur von ganz dünnen Ausstrichen rede, ist selbstverständlich, ebenso daß immer gleichaltrige [24-stündige] und auf dem gleichen Nährsubstrate [Loeffler's Serum] gezüchtete Kulturen benutzt wurden und daß endlich die Methode dieselbe war.)

Ich gebe die Resultate dieser Gram'schen Färbungen in tabellarischer Form:

| No. | Kultur | Untersuchung am | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 4. April | 7. April | 8. April | 9. April |
| 1 | Weichselbaum-Staphylokokkentypus (dick) | ± | ± | ± | ± |
| 2 | „ „ (zart) | ± | ± | ± | ± |
| 3 | „ Streptokokkentypus | — | ± | ± | ×⁰ |
| 4 | Jaeger (von Král mit obigen bezogen) | | | | ± |
| 5 | „ Stuttgarter Kultur | | | | ± |
| 6 | Plagge, Darmstädter Kultur I | | | | ± |
| 7 | „ „ „ G | | | | ×⁰⁰ |
| 8 | „ „ „ H | | | | × |
| 9 | Jaeger, Berliner Kultur | | | | — |

⁰ = Das ganze Präparat ist entfärbt, doch findet sich eine Kette von 6 Gliedern vollkommen gefärbt. ⁰⁰ = Einzelne Glieder stark gefärbt, die meisten aber entfärbt. ± = Gram'sche Färbung positiv. — = negativ. × = vorwiegend negativ.

Man sieht also: mit der Gram schen Färbung bleibt es beim Alten, und es ist den Herren Albrecht und Ghon nicht gelungen, ihrem Coccus eine Sonderstellung gegenüber der Gram'schen Färbung zu sichern.

Aber vielleicht könnte eingewendet werden, daß die hier beobachtete Erscheinung einer Anpassung an die Gram'sche Färbung erst bei lange im Laboratorium fortgezüchteten Kulturen auftrete, bei frischen Fällen aber dieses Färbeverfahren doch konstant negative Ergebnisse liefere. Demgegenüber habe ich aber zu bemerken, daß im März dieses Jahres ein neuer typischer Fall von Cerebrospinalmeningitis zu meiner Beobachtung kam mit typischer Nackenstarre und Ausgang in Heilung. Das durch Lumbalpunktion unter strengster Beobachtung der für sterile Entnahme gebotenen Kautelen entleerte Exsudat war rein serös, enthielt nur spärliche kleine Leukocyten; Bakterien waren auf mikroskopischem Wege in demselben überhaupt nicht zu finden, auch nicht im centrifugierten Exsudate. Ein Teil des entleerten Exsudates wurde zum Anlegen von Kulturen verwendet, ein anderer Teil in den Brütschrank gestellt. In dieser letzteren Probe fanden sich nach 24 Stunden massenhaft freiliegende Kokken. Dieselben entfärbten sich zum größten Teile nach Gram, ein Teil blieb aber gefärbt; es fanden sich alle Uebergänge. Auf den Kulturplatten, welche aus dem frisch entleerten wie

aus dem im Brütschranke der Anreicherung überlassenen Exsudate angelegt worden waren (auf Loeffler-Serum), kamen diese Kolonieen zur Entwickelung, welche sich nach Gram entfärbten. Die weiteren Umzüchtungen verhielten sich ebenso schwankend gegenüber der Gram'schen Methode, wie die vorher beschriebenen Stämme.

Mit dieser letzteren Beobachtung stimmen diejenigen von Heubner[1]), die mir soeben bei Abschluß der Arbeit zugehen, aufs genaueste überein. Derselbe erhielt bei zwei neuen typischen Fällen von Cerebrospinalmeningitis unzweifelhaft Meningokokken mit vollen charakteristischen Merkmalen, aber hinsichtlich der Gram'schen Färbung schwankten die Resultate bei jedem einzelnen Falle; sie waren bald absolut positiv, bald absolut negativ, bald nahmen sie auch eine Mittelstellung ein. So boten beim zweiten Falle die am 7. und 33. Krankheitstage aus der Lumbalpunktionsflüssigkeit gezüchteten Kokken negatives Verhalten, die vom 20. Krankheitstage stammenden aber positives Verhalten dar!

Heubner giebt dabei genau sein Verfahren bei der Gram'schen Färbung an. Dasselbe weicht von den von mir bisher geübten darin ab, daß er das Präparat vor der Jodbehandlung trocknet und hierauf mit einer Mischung von 2 Teilen Anilinöl zu 1 Teil Xylol entfärbt und mit Xylol nachspült; ich hatte dagegen bisher das Präparat unmittelbar aus der Farblösung in die Jodlösung gebracht und nachher mit Alkohol entfärbt. Nach Empfang des Sonderabdruckes von Herrn Geheimrat Heubner habe ich jetzt auch meine aus der Kultur des Weichselbaum'schen Coccus isolierten, sowie meine anderen Stämme nach dieser Methode durchgefärbt; das Resultat war folgendes: Sämtliche Weichselbaum'schen Stämme sowie meine eigenen blieben intensiv gefärbt, wogegen zur Kontrolle mitgefärbte Typhusbacillen vollständig entfärbt wurden.

Nachdem nun die „strenge, aber rein sachliche Kritik" der Herren Albrecht und Ghon einer Nachrüfung an ihrem eigenen Materiale dem „echten Diplococcus intracellularis meningitidis Weichselbaum" in Bezug auf die Gram'sche Färbung so schlecht stand gehalten hat, wollen wir nunmehr sehen, wie es mit der Widerstandsfähigkeit dieses echtesten aller echten Kokken gegen Kälte und gegen Eintrocknen bestellt ist. Was erstens die große Empfindlichkeit derselben gegen Kälte angeht, so habe ich schon oben erwähnt, daß in der That sowohl die mir von Weichselbaum selbst als auch die mir nach Jahresfrist durch Král bei einer Außentemperatur von wenigen Graden über 0 zugegangenen Kulturen abgestorben bei mir eintrafen und daß die wenige Tage nach der letztgenannten eingetroffene Kultur offenbar nur noch wenige lebende Individuen beherbergte, von welchen dann meine hier beschriebenen Studien ihren Ausgang nehmen konnten. Ich war also nicht wenig gespannt auf das weitere Verhalten dieser merkwürdigen kältescheuen Kulturen.

Ich brachte also 3 Wochen nach Beginn der Versuche mit der Weichselbaum'schen Kultur 24 Stunden alte Agarkulturen der oben aufgezählten 10 Stämme für 3 Stunden in eine Kältemischung von — 3 bis — 5° C und machte davon Abimpfungen, welche ich in den Brütschrank stellte. Zunächst schien es, als ob wirklich die Weichselbaum'schen Stämme die Kälte nicht ausgehalten hätten, denn nur der

1) Noch einmal der Meningococcus intracellularis. (Jahrb. f. Kinderheilk. N. F. Bd. LVI. Heft 3.)

eine derselben („Staphylokokkentypus dick") zeigte Wachstum, und zwar die $^{1}/_{2}$ Stunde der Kälte ausgesetzte Kultur reichliches, die andere, die 3 Stunden kalt gehalten war, spärliches Wachstum. Die beiden anderen aber schienen steril zu sein.

Aber nach 48-stündigem Aufenthalte im Brütschranke waren auch diese Kulturen ziemlich reichlich gewachsen und ließen sich von nun ab ohne Schwierigkeit weiterzüchten.

Also auch in dieser Hinsicht konnte keine Differenz des Coccus Weichselbaum gegenüber den zahlreichen anderen Stämmen gefunden werden, es sei denn, daß die Weichselbaum-Kulturen an einer gewissen Lebensschwäche litten, die sich aber bei verständiger Behandlung bald beseitigen ließ.

Ich komme jetzt zum letzten Punkte meiner Studien vom Coccus Weichselbaum, der Widerstandsfähigkeit gegen Austrocknen. Ich habe am 21. Mai 1902 von den 3 Weichselbaum-Stämmen und den 6 anderen oben aufgezählten Aufschwemmungen von Seidenfäden angetrocknet und seither von Zeit zu Zeit auf Nährsubstrat übertragen. Bis auf den heutigen Tag wachsen die Fäden von allen diesen Stämmen noch an, auch 2 von den 3 Weichselbaum'schen. Aber auch der dritte, der kettenbildende, hat seine Entwickelungsfähigkeit in getrocknetem Zustande bis zum 24. Juni 1902, also 6 Wochen lang, bewahrt. Bei der Prüfung am 27. Juli erwies er sich abgestorben.

Wir sehen also an diesen Studien am rasseechten Diploc. mening. Weichselbaum alle diese Merkmale, welche ihm eine Sonderstellung zuweisen sollen, in sich zusammenfallen:

1) Der Coccus ist keineswegs „immer Gram-negativ ... und zeigt niemals ein ungleiches Verhalten dieser Färbungsmethode gegenüber", sondern der echte Diploc. Weichselbaum verhält sich gegen die Gram-Färbung so schwankend, wie nur irgend ein Stamm dieser Kokken sich je gezeigt hat.

2) Das Auftreten langer Ketten, welches die Verfechter eines allein echten Coccus Weichselbaum als „völlig unvereinbar mit dem Diploc. intrac. mening." erklären, habe ich nirgends so schön beobachten können, wie gerade an einer aus der authentischen Kultur der Weichselbaum'schen Kokken herausgezüchteten Varietät.

3) Die Resistenz der echten Kokken gegen Eintrocknen und gegen Kälteeinwirkung habe ich an den mir zugegangenen Kulturen wohl bestätigen können. Sobald aber diese durch einige Generationen auf günstigeren Nährsubstraten (besonders traubenzuckerhaltiger nach der Empfehlung Councilman's) gezüchtet waren, so hob sich mit dem besseren Wachstume und der besseren Aufnahmefähigkeit für Farbstoffe (einschließlich der Gram'schen Färbung) gleichzeitig auch die Widerstandsfähigkeit gegen Kältewirkung und gegen Eintrocknen, so daß jetzt nach dieser Richtung nicht der geringste Unterschied mehr zu bemerken ist.

Die Kokkenstämme Weichselbaum's haben mir also dieselben Eigenschaften gezeigt, wie die zahlreichen anderen Stämme, welche ich bei verschiedenen Epidemieen und bei sporadischen Fällen aus ganz Deutschland teils selbst isoliert, teils behufs vergleichender Untersuchung von anderen Forschern zugeschickt erhalten habe. Ueberall hatten diese

Kokken das typische klinische Bild der Cerebrospinalmeningitis hervorgerufen, einerlei ob sie sich nach Gram färben ließen oder ungefärbt blieben, ob sie sich auf Agarnährboden entwickelten oder Traubenzucker enthaltende Nährböden beanspruchten, ob die Beläge auf den Nährsubstraten zart, grau, schleierartig oder dick, milchweiß oder lackartig waren.

Wo bleibt nun unter allen diesen zahlreichen Typen der echte Stamm? — Die Weisheit Nathan's, wie sie sich im Gleichnisse von den drei Ringen ausspricht, scheint der Schule Weichselbaum's abhanden gekommen zu sein!

---



# Studien über Wasserbakterien des Leitungswassers der Stadt Buenos Aires, mit besonderer Berücksichtigung der Pigmentbakterien.

[Ausgeführt im Auftrage und unter Kontrolle von Dr. O. Voges, Direktor des Laboratoriums des nationalen Departements für Hygiene.]

Von **Domiciano Fernandez,** Praktikant des Laboratoriums.

In der vorliegenden Arbeit soll Bericht erstattet werden über die in einem Zeitraum von 2 Jahren gelegentlich der bakteriologischen Wasseruntersuchungen im Laboratorium aufgefundenen verschiedenen Pigmentbakterien.

Das Leitungswasser ist dem Rio de la Plata entnommen. Das Flußwasser hat permanent eine dunkelgelbe Farbe, herrührend von lehmigen Bestandteilen, welche aus dem Innern der Urwälder ihm zugeführt werden. Der Bakteriengehalt des Wassers beträgt in verschiedenen Zeiten 10—50000 Keime pro ccm. Dieses Wasser wird durch Sandfilter filtriert und von einem Sammelbassin aus der Stadt zugeführt.

Das filtrierte Wasser ist in der Regel noch ziemlich bedeutend trübe, der Keimgehalt schwankt zwischen 200—2000 Keime pro ccm. Die zu den Untersuchungen verwandten Wasserproben sind den verschiedenen Filtern, dem Sammeldepot und aus einem Wasserhahn des Laboratoriums entnommen. Die verschiedenen Bakterien sind mittels Gelatineplatten aus dem Wasser isoliert und die Reinkulturen dann weiter studiert unter Berücksichtigung aller der im Buche von Eisenberg angegebenen differentialdiagnostisch wichtigen Merkmale.

Es mag noch bemerkt werden, daß es nicht möglich war, alle aufgefundenen Bakterien diagnostisch zu bestimmen; einmal, weil uns die notwendige Speziallitteratur nicht zur Verfügung stand, dann aber auch, weil in den meisten, und besonders in den älteren diagnostischen Beschreibungen von Wasserbakterien die Klassifizierung derselben derartig unvollkommen ist, daß es schlechterdings unmöglich war, festzustellen, ob unsere Bakterien identisch oder verschieden sind.

Aus diesen Gründen muß ich von vornherein um Entschuldigung bitten, wenn ich die Beschreibung eines Bakteriums noch einmal bringe, wenn es schon anderweitig bekannt sein sollte.

Die Bakterien wurden direkt unter dem Mikroskop im ungefärbten

wie im gefärbten Zustande beobachtet (Methode von Ziehl und Gram). Die Entwickelung der Bakterien wurde studiert in 15-proz. schwach alkalischer Gelatine, auf 2-proz. schwach alkalischem Agaragar, in Bouillon mit 1 Proz. Pepton Witte, in 1-proz. Traubenzuckerbouillon, in Milch, auf Kartoffeln, in 1 Proz. Pepton-(Witte)-Wasser, in destilliertem Wasser und in sterilisiertem Leitungswasser.

Wir beginnen nunmehr mit der Aufzählung der verschiedenen Bakterien.

No. 1. Citronengelb.

Bacillus: Im hängenden Tropfen, bei direkter Beobachtung unter dem Mikroskop, beweglich.

Er entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Es entwickeln sich 48 Stunden nach der Aussaat bei einer Temperatur zwischen 16 und 26° kleine Kolonieen, welche rund sind, von gelblicher Farbe. Bei schwacher Vergrößerung erscheint der Inhalt dieser Kolonieen gleichförmig fein granuliert, mit glattem Rand.

In Gelatinestichkultur findet Wachstum dem ganzen Impfstich entlang statt, wobei die Gelatine nicht verflüssigt wird.

Agaragar: In Stichkulturen entwickelt sich der Bacillus bei gewöhnlicher Zimmertemperatur in 48 Stunden zu einem mäßig kräftigen Belag, mit einer citronengelben Oberfläche.

Bouillon: Bei Zimmertemperatur in 48 Stunden, bei Körpertemperatur in 24 Stunden, wird die Bouillon in ihrem ganzen Inhalt gleichmäßig getrübt; auf der Oberfläche entsteht ein feines Häutchen.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keinerlei Gasbildung statt, die Reaktion der Bouillon ist bei Prüfung mit Lackmuspapier nicht verändert.

Milch: Die Milch wird nicht koaguliert; der Geruch der Milch wird auch nicht verändert.

Kartoffel: Auf Kartoffeln findet weder bei Zimmertemperatur noch bei Brütofenwärme eine Entwickelung statt.

Peptonwasser: In 24 Stunden wird dasselbe wie Bouillon gleichmäßig getrübt, unter Häutchenbildung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Die Bacillen entwickeln sich in diesem Nährmedium, auch bei Brüttemperatur, aber spärlich.

Destilliertes Wasser: Es findet keine Entwickelung der eingesäten Bakterien statt.

Indol: Die Reaktion ist negativ.

Der Bacillus ist fakultativ anaërob.

No. 2. Citronengelber Pigmentbacillus. Kurzes, unbewegliches Stäbchen, welches sich nach der Methode von Gram entfärbt.

Gelatineplatten: In 48 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 19—25° kleine Kolonieen von weißlicher Farbe; dieselben sind rundlich und verflüssigen die Gelatine etwas.

Bei schwacher Vergrößerung zeigen diese Kolonieen ganz unregelmäßige Ränder, die Oberfläche schwach granuliert, der Inhalt opak.

Gelatine: In Stichkulturen entwickeln sich in 48 Stunden bei der Temperatur von 27° an der Oberfläche Kolonieen, ähnlich denen in den Petri-Schalen; auch dem ganzen Impfstich entlang findet Entwickelung statt. Die Gelatine wird langsam verflüssigt, in Form eines Trichters.

Agaragar: In Agarstrichkulturen findet auch bei Zimmertemperatur reichlich Entwickelung statt; die Oberfläche des Impfstiches hat eine citronengelbe Farbe.

Bouillon: In 24 Stunden wird die Bouillon bei 30° C nicht getrübt, nur am Grund des Röhrchens findet sich ein Bodensatz.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert allmählich sauer.

Milch: Reichliche Entwickelung; dieselbe wird koaguliert und bekommt einen stinkenden Geruch.

Kartoffel: Es findet eine reichliche Entwickelung statt bei Zimmertemperatur in 48 Stunden; die Oberfläche der Kolonieen ist citronengelb.

1-proz. Peptonwasser: In 24 Stunden findet selbst bei Brutofentemperatur keine Trübung der Lösung statt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Die Kulturen verhalten sich wie im Peptonwasser.

Destilliertes Wasser: Eine Entwickelung der Kulturen findet nicht statt.

Indol: Es wird reichlich Indol gebildet.

Die Kulturen wachsen aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen: Diese sind angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. In keinem dieser Reagentien ist der citronengelbe Farbstoff löslich.

Der Farbstoff erleidet keinerlei Veränderung durch Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Schwefelsäure, Salzsäure und Salpetersäure.

---

No. 3. Citronengelber Pigmentbacillus. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: In 48 Stunden entwickeln sich bei einer durchschnittlichen Temperatur von 19—24° Kolonieen an der Oberfläche und in der Tiefe; dieselben sind mäßig groß und haben unregelmäßige Ränder, die Farbe ist citronengelb. Sie verflüssigen die Gelatine; die tiefer gelegenen Kolonieen sind kleiner und mehr abgerundet.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Ränder der citronengelben, oberflächlichen Kolonieen ausgebuchtet, der Inhalt mäßig granuliert. Die tieferen Kolonieen sind rund oder eiförmig, die Ränder leicht gezähnt und ausgefranst.

Gelatinestichkultur: Die Entwickelung findet längs des ganzen Impfstiches statt. Die Gelatine wird rasch in Form eines Trichters verflüssigt.

Agaragar: Bei Zimmertemperatur findet eine reichliche Entwickelung längs des Impfstriches statt. Die Kolonieen sind citronengelb gefärbt.

Bouillon: In 24 Stunden wird die Bouillon bei einer Temperatur von 30° in allen Teilen gleichmäßig gefärbt; eine Häutchenbildung findet indes nicht statt.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keinerlei Gasbildung statt; die Bouillon verliert allmählich ihre alkalische Reaktion; Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Die Bacillen entwickeln sich sehr reichlich, koagulieren die Milch und produzieren einen stinkenden Geruch in derselben.

Kartoffel: Bei Zimmertemperatur findet eine reichliche Entwickelung statt, unter Bildung eines lebhaft schwefelgelben Pigments.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen ist die ganze Flüssigkeit gleichmäßig getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: In demselben findet weder bei Brutofentemperatur noch bei Zimmertemperatur eine sichtbare Entwickelung statt.

Destilliertes Wasser: Es findet keinerlei Entwickelung der eingesäten Bakterien statt.

Indol: Die Indolreaktion ist absolut negativ.

Die Bacillen wachsen aërob wie anaërob; in letzterem Falle verlieren sie ihre Farbe.

Chemische Reaktionen: Dieselben sind angestellt mit frischen Kartoffelkulturen, der Pigmentfarbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Eine Veränderung der Farbe wird weder hervorgerufen durch Ammoniak noch durch Säuren, wie Essigsäure, Schwefelsäure, Salzsäure und Salpetersäure.

---

No. 4. Citronengelber Bacillus. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen außerordentlich lebhaft beweglich. Nach der Methode von Gram findet keine Entfärbung statt.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 19—25° entwickeln sich kleine Kolonieen von weißer Farbe und rundlicher Gestalt, das Centrum derselben ist graugelb gefärbt.

Bei schwacher Vergrößerung sind die oberflächlichen Kolonieen außerordentlich charakteristisch, das Centrum derselben ist opak und schmutziggelb, die Ränder sind sehr unregelmäßig und haben grobe Ausläufer, ähnlich ausgezupfter Watte. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Gelatinestichkultur: Eine Entwickelung findet längs des ganzen Impfstiches statt, mit nagelförmiger Ausbreitung der Oberfläche.

Agaragar: Es findet eine reichliche Entwickelung bei Zimmertemperatur statt innerhalb 48 Stunden. Die Kulturen sind citronengelb pigmentiert.

1-proz. Peptonbouillon: In 24 Stunden wird die Bouillon bei einer Temperatur von 30° gleichmäßig, und zwar ziemlich stark, getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keinerlei Gasentwickelung statt. Die trübe gewordene Bouillon verliert ihre Alkalinität. Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Es findet reichliche Entwickelung statt. Die Milch wird aber nicht koaguliert. Beim Oeffnen der Röhrchen entweicht ein stinkender Geruch.

Kartoffel: Bei einer Temperatur von 17° findet in 48 Stunden eine ziemlich reichliche Entwickelung statt. Der Impfstrich hat eine ausgesprochen citronengelbe Farbe.

Sterilisiertes Leitungswasser: In 24 Stunden entwickeln sich bei 33° spärliche Bakterien.

Destilliertes Wasser: In diesem Nährmedium findet keinerlei Entwickelung statt.

Indol: Indolreaktion fiel negativ aus.

Der Bacillus wächst aërob wie anaërob und verliert im letzten Fall seinen Farbstoff.

Chemische Reaktionen: Frische Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Die Farbe verändert sich nicht durch Ammoniak noch durch Essigsäure, Schwefelsäure, Salzsäure und Salpetersäure.

---

No. 5. Citronengelber Bacillus. Kurzes Stäbchen. Im hängenden Tropfen beobachtet man langsame Beweglichkeit. Nach der Methode von Gram entfärben sich die Bacillen.

Gelatineplatten: In 48 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 17—27° kleine, gelbliche, durchsichtige Kolonieen; bei schwacher Vergrößerung erscheinen die tief gelegenen Kolonieen rund, klein und etwas dunkler gelb gefärbt. Die oberflächlichen Kolonieen sind ebenfalls rundlich, nach dem Centrum zu etwas dichter und fein granuliert, die Ränder sind fein gezackt, die Farbe derselben ist gelblich.

Gelatinestichkultur: Es findet Entwickelung längs des ganzen Impfstiches statt. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen findet bei gewöhnlicher Temperatur reichliches Wachstum statt, unter Bildung eines citronengelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon. Bei 24-stündigen Aufenthalt im Brütofen von 30° beobachtet man reichliches Wachstum der Bakterien; die Bouillon wird gleichmäßig getrübt. Auf der Oberfläche der Flüssigkeit hat sich ein zartes Häutchen gebildet.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keinerlei Gasbildung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Die Milch ist ein guter Nährboden für die Bacillen, sie gerinnt, die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Es findet bei gewöhnlicher Zimmertemperatur eine reichliche Entwickelung statt, unter Bildung eines schwach geblichweißen Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Bei 30° wird das Peptonwasser innerhalb 24 Stunden gleichmäßig getrübt, nach längerem Stehen beobachtet man an der Oberfläche der Flüssigkeit ein zartes Häutchen.

Sterilisiertes Leitungswasser: In demselben findet nur eine spärliche Entwickelung des Bacillus statt.

Destilliertes Wasser: Der Bacillus verhält sich in demselben wie im Leitungswasser.

Indol: Indolreaktion war negativ.

Der Bacillus wächst aërob wie anaërob, in letzterem Falle verliert er die Farbe.

Chemische Reaktionen: Angestellt mit frischen Kartoffekulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Eine Veränderung des Farbstoffes konnte nicht beobachtet werden, weder durch Zusatz von Ammoniak noch durch Säuren, wie Essigsäure, Schwefelsäure, Salzsäure und Salpetersäure.

---

No. 6. Citronengelber Bacillus. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—24° entwickeln sich auf den Gelatineplatten kleine, runde Kolonieen. Die oberflächlichen sind gelb gefärbt, bei schwacher Vergrößerung zeigen die intensiv gelb gefärbten Kolonieen einen leicht gekörnten Inhalt, der Rand derselben ist glatt.

Gelatinestichkultur: Es findet Wachstum entlang des ganzen Impfstiches statt, die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen findet eine ziemlich reichliche Entwickelung statt unter Bildung eines schönen citronengelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: In 24 Stunden, bei einer Temperatur von 30°, bleibt die Bouillon klar, nur am Grunde des Röhrchens findet sich einer kleiner Bodensatz.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasentwickelung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Dieselbe wird nicht koaguliert, die reichlich gewachsenen Kulturen sind geruchlos.

Kartoffel: Es findet keine Entwickelung statt, weder bei gewöhnlicher Zimmertemperatur noch im Brütofen.

1-proz. Peptonwasser: Es findet nur äußerst spärliche Entwickelung statt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Eine Vermehrung der ausgesäten Bakterien konnte nicht beobachtet werden.

Destilliertes Wasser: Es findet keinerlei Wachstum und Vermehrung statt.

Indol: Die Reaktion war negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob. In letzterem Falle farblos.

Chemische Reaktionen: Der Farbstoff der Bakterien war unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin; es trat keine Veränderung ein in dem Ton der Farbe nach Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Schwefelsäure, Salzsäure und Salpetersäure.

---

No. 7. Citronengelber Bacillus. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen beweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 18—24° entwickeln sich in der Tiefe runde, schmutziggelbe Kolonieen. Die oberflächlichen Kolonieen sind nach 48 Stunden sehr groß, von runder Form und von weißgelber Farbe. Bei schwacher Vergrößerung zeigen diese Kolonieen einen unregelmäßigen Rand, der vielfach ausgebuchtet ist, die Oberfläche ist stark granuliert, die Farbe ist schmutziggelb, nach dem Rande zu allmählich abblassend.

Gelatinestichkultur: Es findet Entwickelung längs des ganzen Impfstiches statt, nach 48 Stunden ist die Gelatine in der Umgebung der Kultur in mäßigem Grade trichterförmig verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen findet eine reichliche Entwickelung statt, unter Bildung eines citronengelben Farbstoffes. Bei Brütofentemperatur bleiben die Kolonieen farblos.

1-proz. Peptonbouillon: Es findet eine reichliche und schnelle Entwickelung statt; die Flüssigkeit ist gleichmäßig getrübt. Nach längerem Stehen bildet sich an der Oberfläche ein zartes Häutchen.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert leicht sauer.

Milch: Die Entwickelung der Bakterien ist sehr reichlich, die Milch wird koaguliert, die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffel: Auf Kartoffeln findet reichliches Wachstum statt schon bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung eines citronengelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Es findet nur äußerst spärliche Vermehrung der eingesäten Bakterien statt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Das Wachstum ist sehr gering, selbst im Brütofen.

Destilliertes Wasser: Eine Zunahme der ausgesäten Bakterien konnte nicht beobachtet werden.

Indol: Reaktion war negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob, im letzten Falle farblos.

Chemische Reaktionen: Angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Das gelbe Pigment war unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Eine Veränderung des Farbtones konnte nicht beobachtet werden nach Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 8. Citronengelbes Bakterium. Micrococcus. Im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur zwischen 19—24° C entwickeln sich oberflächlich kleine gelbe Kolonieen, die die Umgebung langsam verflüssigen; bei schwacher Vergrößerung erscheinen die tieferen Kolonieen schmutzig gelblichbraun, die oberflächlichen sind citronengelb, rund, der Inhalt gleichmäßig fast ungekörnt, die Ränder sind leicht gezähnt.

Gelatinestichkultur: Die Entwickelung der Mikrokokken findet längs des ganzen Impfstiches statt, die Gelatine wird bei 22° C in 48 Stunden mäßig verflüssigt in Form eines Trichters.

Agaragar: In Strichkulturen findet eine reichliche Entwickelung statt, bei Zimmertemperatur unter Bildung eines citronengelben Farbstoffes, bei Bruttemperatur ohne Pigmentbildung.

Bouillon: Die Bouillon wird in 24 Stunden gleichmäßig, und zwar ziemlich stark, getrübt; Häutchenbildung wurde nicht beobachtet.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasentwickelung statt, die Reaktion schlägt in leichten Säuregrad um.

Milch: Außerordentlich reiche Entwickelung; die Milch wird koaguliert und hat einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Unter Bildung eines graugelben Belages findet eine reichliche Entwickelung statt.

1-proz. Peptonwasser: Man beobachtet reichliches Wachstum unter einer gleichmäßigen Trübung des Nährbodens.

Sterilisiertes Leitungswasser: Es findet höchstens eine äußerst spärliche Entwickelung der Aussaat statt.

Destilliertes Wasser: Man beobachtet keinerlei Vermehrung der Bakterien.

Indol: Die Indolreaktion war negativ.

Die Bakterien sind aërob und anaërob, im letzteren Fall verlieren sie das Farbstoffbildungsvermögen.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen: Der Farbstoff läßt sich nicht lösen in Alkohol, Aether, Xylol, Benzin und Terpentin. Es findet keine Farbenreaktion statt nach Zusatz von Ammoniak, Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure und Essigsäure.

---

No. 9. Citronengelbes Bakterium. Kurzstäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich; es entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 19—26° kleine weiße Kolonieen. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen diese Kolonieen rundlich, der Inhalt ist fast gleichmäßig und nur sehr fein granuliert. Die Ränder sind leicht ausgezähnt, die Farbe derselben ist gelblichweiß.

Gelatinestichkultur: Die Entwickelung findet längs des ganzen Impfstiches statt; die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: Auf Strichkulturen findet eine spärliche Entwickelung statt. Die Kolonieen haben eine schwach citronengelbe Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Bei einer Brütofentemperatur von 30° C beobachtet man nach 24 Stunden eine Trübung der Flüssigkeit. Eine Häutchenbildung findet nicht statt.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasentwickelung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert leicht sauer.

Milch: Die Milch wird nicht koaguliert, doch findet eine Entwickelung der Keime statt. Der Geruch der Milch ist stinkend.

Kartoffel: Bei gewöhnlicher Zimmertemperatur findet keine Entwickelung statt.

1-proz. Peptonwasser: Bei Brütofentemperatur wird die Flüssigkeit in 24 Stunden vollständig getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Selbst bei Brütofentemperatur beobachtet man nach 24 Stunden nur eine spärliche Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie sterilisiertes Leitungswasser.

Indol: Indolreaktion war negativ.

Das Bakterium wächst aërob und anaërob, in letzterem Falle verliert es seine Farbe.

Chemische Reaktionen: Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Es findet keine Farbenreaktion statt nach Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 10. Citronengelbes Bakterium. Staphylococcus. Im hängenden Tropfen unbeweglich; entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—26° entwickeln sich in 48 Stunden auf der Oberfläche kleine gelbe unregelmäßige Kolonieen. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen diese Kolonieen aus runden Segmenten zusammengesetzt, welche an der Peripherie einen gezackten Rand hervorrufen. Die Farbe derselben ist gelb.

Gelatinestichkultur: Wächst dem ganzen Impfstich entlang; die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen findet eine ziemlich üppige Entwickelung statt, unter Bildung eines citronengelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Die Flüssigkeit wird in ihrem ganzen Inhalt gleichmäßig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Eine Gasbildung findet nicht statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Die Milch gerinnt nicht, die gewachsenen Kulturen sind geruchlos.

Kartoffel: Auf diesem Nährboden findet keine Entwickelung statt.

1-proz. Peptonwasser: Gleichmäßige Trübung der ganzen Flüssigkeit.

Sterilisiertes Leitungswasser: Es findet keine sichtbare Entwickelung statt.

Destilliertes Wasser: Ebensowenig.

Indol: Indolbildung findet nicht statt.

Das Bakterium wächst aërob und anaërob und verliert im letzteren Falle seine Farbe.

Chemische Reaktionen: Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Es findet keine Veränderung des Farbstoffes statt bei Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 11. Citronengelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich; entfärbt sich nach Gram.

Gelatineplatten: In 48 Stunden findet reichliches Wachstum von runden citronengelben Kolonieen statt. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die in der Tiefe liegenden als dunkelgelbe runde Punkte, die an der Oberfläche befindlichen sind mehr citronengelb und auf der Oberfläche ausgebreitet und leicht granuliert mit glatten Rändern.

Gelatinestichkultur: Wachstum findet dem ganzen Impfstich entlang statt und verflüssigt die Gelatine nicht.

Agaragar: Es findet eine ziemliche Entwickelung statt, unter Bildung eines citronengelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Bei 30° findet nach 24 Stunden eine gleichmäßige Trübung des Nährbodens statt.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasentwickelung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert leicht sauer.

Milch: Die Kulturen entwickeln sich gut, sind geruchlos und die Milch gerinnt erst nach mehreren Tagen.

Kartoffel: Es findet keine Entwickelung auf diesem Nährboden statt.

1-proz. Peptonwasser: Dasselbe wird leicht getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Es findet nur schwache Entwickelung der Einsaat statt.

Destilliertes Wasser: Es findet keinerlei Wachstum statt.

Indol: Indolreaktion negativ.

Das Bakterium wächst aërob und anaërob, verliert im letzteren Fall seine Farbe.

Chemische Reaktionen: Der Farbstoff ist nicht löslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Derselbe wird nicht verändert durch Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

No. 12. Citronengelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—25° entwickeln sich in 24 Stunden kleine, runde, gelbliche Kolonieen. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben in ihrem Innern granuliert, der Rand ist glatt, die Gelatine wird in der Umgebung verflüssigt.

Gelatinestichkultur: Bei einer Temperatur von 22° findet in 48 Stunden längs des ganzen Impfstiches Entwickelung statt, unter mittelmäßig schneller Verflüssigung der Gelatine, in Form eines Trichters.

Agaragar: In Strichkulturen findet eine ziemlich reichliche Entwickelung schon bei Zimmertemperatur statt, unter Bildung eines citronengelben Pigmentes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden wird dieselbe gleichmäßig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Eine Gasbildung findet nicht statt. Die Reaktion der Bouillon wird leicht sauer.

Milch: Milchkulturen haben einen stinkenden Geruch, die Milch wird koaguliert.

Kartoffel: Schon bei Zimmertemperatur findet eine lebhafte Entwickelung statt, unter Bildung eines weiß-gelblichen Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden Wachstum im Brutofen beobachtet man eine gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Sterilisiertes Leitungswasser: Nach 24 Stunden Wachstum im Brutofen beobachtet man nur eine spärliche Entwickelung der Bakterien.

Destilliertes Wasser: Es findet keine Entwickelung der Bakterien statt.

Indol: Indolreaktion fällt positiv aus.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob, verliert in letzterem Falle seine Farbe.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen: Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Keinerlei Veränderungen des Farbtones findet statt nach Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Schwefelsäure, Salzsäure und Salpetersäure.

(Schluß folgt.)

# Ueber einen neuen, Stallinfektionen verursachenden Mikroorganismus.

[Aus dem kgl. hygienischen Institute in Posen [Direktor: Medizinalrat Prof. Dr. Wernicke].)

Von Dr. **Schwer,**

Assistenzart im Inf.-Regt. No. 47, kommandiert zum hygien. Institute in Posen.

Mit 2 Abbildungen.

Eine wahre crux für das Arbeiten mit kleineren Versuchstieren in bakteriologischen Laboratorien stellen die nicht selten in den Tierställen spontan auftretenden Epizootieen dar, welche oft die wertvollsten Versuchstiere dahinraffen und so langwierige und mühselige experimentelle Arbeiten vernichten.

Wenn auch ganz besonders mit Bakterien oder Stoffwechselprodukten derselben behandelte Versuchstiere an solchen epizootischen Krankheiten zu Grunde gehen — namentlich oft erliegen mit tuberkulösem Virus infizierte Meerschweinchen und Kaninchen derartigen spontanen Sekundärinfektionen — so werden auch häufig noch unbehandelte Tiere ergriffen und kann das experimentelle Arbeiten an Tieren zu Zeiten ganz unmöglich werden.

Unter Stallinfektionen der Meerschweinchen, Kaninchen und weißen Ratten hat das hiesige hygienische Institut seit seiner Eröffnung vor 3 Jahren, namentlich im Winter und Frühjahre, zu leiden. Besonders erlagen in den Wintermonaten die Meerschweinchen in großer Zahl. Herr Professor Wernicke isolierte aus einigen erkrankten und verendeten Tieren eine Bakterienart nnd hatte die Güte, mir die nähere Untersuchung derselben zu übertragen. Als im Mai dieses Jahres wiederum Meerschweinchen an Stallinfektionen zu Grunde gingen, fand ich bei der Untersuchung dieselbe Bakterienart bei einem Meerschweinchen wieder.

Da die als Ursache der hiesigen Stallinfektion gefundene Mikrobenart noch nicht genauer beschrieben ist, soweit ich die mir zur Verfügung stehende Litteratur überblicken kann, so soll der gefundene Organismus im Nachstehenden etwas eingehender in seiner Eigenart charakterisiert werden.

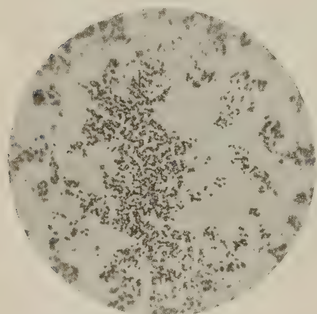
Was zunächst das klinische Verhalten der in unserem Tierstalle erkrankten Tiere betrifft, so wurden außer geringer Abmagerung und erhöhter Körpertemperatur besonders ins Auge fallende Krankheitserscheinungen nicht beobachtet. Die Tiere wurden meist morgens tot aufgefunden. Eine besondere Lagerung oder Krampfstellung, Schaumaustritt aus dem Maule, Sekret an den Nasenlöchern und den Augen fehlten. Im Gegensatze zu diesem negativen klinischen Verhalten steht der Sektionsbefund. Bei Eröffnung der Bauchhöhle fielen vor allem dicke, fibrinös-eitrige Beläge auf der Leber, Milz und der Darmserosa auf, die sich leicht abziehen ließen. Daneben fanden sich freie Eiterflocken im Exsudate zwischen den Darmschlingen und an der hinteren Bauchwand. Die Darmschlingen waren zum Teil durch fibrinöse Stränge miteinander verklebt. Die Lymphdrüsen waren nicht besonders stark geschwollen; Milz und Leber waren meist vergrößert und zeigten bisweilen ausgedehnte nekrotische Herde; erstere war meist vollständig

von fibrinös-eiterigen Belägen eingehüllt. Die Gefäße der Darmserosa waren stark injiziert. An den Lungen bestand stets starke Hyperämie, mehr in den oberen als in den unteren Abschnitten, Hepatisationen hingegen waren nie nachweisbar. Das Herz war in der Regel diastolisch erweitert, der linke Ventrikel mit schwarzem, zum Teil geronnenem Blute gefällt.

Ueber das mikroskopische Aussehen der Organe soll weiter unten noch gesprochen werden.

In Ausstrichpräparaten mit Organsäften, Eiter und Herzblut fanden sich anscheinend in Reinkultur zahlreiche kleine Stäbchen, die sich nicht nach Gram färbten. Dieselben Stäbchen fand ich, wie schon erwähnt, bei einem der im Mai d. J. eingegangenen Meerschweinchen und züchtete sie in Reinkultur. Diese Bakterienart zeigte nun folgende Eigenschaften:

Sowohl in frisch aus dem Tierkörper entnommenen Ausstrichpräparaten wie in Kultur-, Klatsch- und Ausstrichpräparaten, die ich mit Fuchsin oder Methylenblau färbte, fand ich sehr kleine Stäbchen, etwas größer als die Mikroben der Hühnercholera. Meist lagen sie in größeren Haufen zusammen, oft auch zu zweien neben- oder hintereinander, seltener waren sie in kleineren Ketten angeordnet, an den Enden zeigten sie sich leicht abgerundet. Infolge des wenig größeren Längen- als Dickendurchmessers machten sie auf den ersten Blick den Eindruck von Kokken, erwiesen sich jedoch bei intensiverer Färbung deutlich als Kurzstäbchen (siehe Fig. 1) Im hängenden Tropfen waren sie fast stets zu größeren und kleineren Haufen zusammengeballt — nur selten fand ich hier isolierte Kurzstäbchen — mit lebhafter Molekularbewegung, die der Eigenbewegung sehr nahe kommt. Sie färbten sich gut nach den gewöhnlichen Färbemethoden, jedoch nicht nach Gram. Bei einem Stamme, den ich aus dem Blute eines infizierten Kaninchens erhielt und welcher etwas größere Formen zeigte, färbten sich die Bakterien mittels der Koch'schen Borax-Methylenblaumethode zum großen Teil bipolar. Weder Sporen noch Geißeln, noch eine Kapsel ließen sich nachweisen. Das Wachstum ist ein gleich gutes bei Sauerstoffanwesenheit wie bei Sauerstoffabschluß. Indol, Phenol oder Farbstoff werden von dem Bakterium nicht gebildet.


Fig. 1.

Das schnellste und üppigste Wachstum erfolgt bei 37,5° C, doch auch bei Zimmer-, selbst bei Kellertemperatur von 10—12° gedeiht der Mikroorganismus gut.

Auf den einzelnen Nährböden zeigten die Bakterien folgendes Verhalten:

Gelatineplatte: Erst nach mehreren Tagen kommen auf der Oberfläche ganz vereinzelte, mohnkorngroße, kleine, weißliche, scharf umrandete Kolonieen von mattem Glanze mit einem gelblichen Nabel zur Entwickelung. Bei schwacher Vergrößerung sieht man in der Kolonie eine nach der Peripherie hin feiner werdende Granulation. Etwas zahlreicher wachsen die Kolonieen in der Tiefe als gelblich-weiße, sandkorngroße Punkte, die bei schwacher Vergrößerung fein granuliert sind.

Gelatinestich (nach 2—3 Tagen): Im ganzen Verlaufe desselben eine fadenförmige Trübung ohne seitliche Fortsätze; an der Oberfläche ein stecknadelkopfgroßer, grauweißer Belag.

Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Das Wachstum auf derselben ist ein äußerst spärliches und langsames.

Agarplatte (nach 2 Tagen): Oberflächliche Kolonie; natürliche Größe: Weißliche, mattglänzende, runde bis linsengroße Kolonieen mit scharfem Rande, oft auch nierenförmig gestaltet, mit einem gelben Nabel. Die Kolonie läßt sich leicht vom Nährboden abstreifen, nach längerem Wachstum erhält sie ein gelbliches Aussehen.

Schwache Vergrößerung: Im Centrum ein meist wetzsteinförmiger, braungelber, von der Umgebung sich scharf abhebender, grobgranulierter Kern; um diesen herum ist die Kolonie feiner granuliert und von hellerem Farbenton, nach außen ist sie von einem inneren graublauen und einem äußeren weißlichen Ringe begrenzt.

Tiefliegende Kolonie; natürliche Größe: Kleine, runde, wetzsteinförmige, gelbe Kolonieen. Schwache Vergrößerung: Grobgranuliert, im Centrum gelbbraun, nach der Peripherie hin grünlich-grau, der Rand scharf und dunkel.

Agarstich: Im ganzen Verlaufe desselben eine fadenförmige Trübung, die von ballenförmig aufeinander geschichteten, zarten und durchscheinenden Ausläufern umgeben ist; letztere sind an den Enden abgerundet und nehmen an Länge nach unten zu ab. Die Oberfläche ist schon nach 1 Tage völlig von einem mattglänzenden, grauweißen Belage überzogen, der sich aus feinsten punktförmigen Kolonieen zusammensetzt.

Agarstrich: Die Kolonie beschränkt sich nicht auf den Strich, sondern wächst weit über denselben hinaus, mit perlschnurartigem Rande, ist mattglänzend und haftet locker am Nährboden. Das Kondenswasser ist klar, im Bereich desselben liegt die Bakterienwucherung auf der Agaroberfläche wie ein sandiger Beschlag, auf dem Grunde des Kondenswassers ein bröckeliger Niederschlag.

Bouillon (nach 24 Stunden): Gleichmäßige Trübung mit einem Niederschlage, der beim Schütteln in kleine Bröckelchen zerfällt. An der stärker geneigten Fläche des Reagensröhrchens haftet ziemlich fest ein sandiger Beschlag. Nach 10 Tagen ist die Bouillon klar, am Boden liegt ein zäh zusammenhaftender, beim Aufschütteln sich fadenförmig ausziehender Niederschlag. Keine Häutchenbildung.

Milch: Wird schwach sauer, jedoch nicht koaguliert.

Kartoffel: Ueppiges Wachstum; nach 3 Tagen ein gelbgrüner, feuchtglänzender Belag, der sich leicht loslösen läßt.

Loeffler'sches Diphtherieblutserum: Im Bereiche des Striches gleichmäßig wachsende, weiße Kolonie von mattem Glanze und mit perlschnurartigem Rande.

Auf traubenzucker- und glycerinhaltigen Nährböden ist das Wachstum des Bakteriums ein gleich gutes und ganz ähnliches wie auf den bereits erwähnten.

In ersteren bildet es kein Gas, dagegen geringe Säure.

Bezüglich der Widerstandsfähigkeit des beschriebenen Organismus ist folgendes zu erwähnen: Bei einer Temperatur von 60° C wird er nach 1 Minute abgetötet, ebenso stirbt er im Eisschranke ab. 1-promill. Salzsäure-Sublimatlösung tötet ihn nach $^1/_2$ Minute, 5-proz. Karbolsäurelösung nach 5 Minuten, absoluter Alkohol nach 8 Minuten.

Auf ein und demselben Nährboden hält er sich etwa 2 Monate lebensfähig, erfährt aber dadurch eine erhebliche Abnahme seiner Virulenz.

Mikroskopisch ist Form und Anordnung der Bakterien in allen Nährböden eine ziemlich gleichmäßige, wie oben beschrieben.

Bei der mikroskopischen Betrachtung von Organschnitten (in Paraffin eingebettet und nach Weigert gefärbt) des im Mai eingegangenen und von mir speziell untersuchten Meerschweinchens fand sich in fast sämtlichen Organen eine starke Blutfüllung, besonders in den Lungen, in denen die Kapillaren äußerst stark erweitert und mit Blut gefüllt waren; die Lungenalveolen waren frei. Die Beläge auf den serösen Häuten erwiesen sich als fibrinös-eitrig. In der Leber bestand ausgedehnte Gewebsnekrose. Sonst waren an den einzelnen Organen vorgeschrittene Gewebsveränderungen nicht nachweisbar. Ueberall im Gewebe, zwischen den Zellen und in den Kapillaren zwischen den Blutkörperchen, fanden sich die beschriebenen Bakterien, meist in kleinen Haufen zusammenliegend, vor, besonders zahlreich in der Milz und Leber, am spärlichsten im Herzen. Am deutlichsten heben sich die Bakterien in Schnitten, die mit Karbolfuchsin gefärbt waren, von dem sie umgebenden Gewebe ab, weniger scharf traten sie bei Methylenblaufärbung zu Tage (siehe Fig. 2).

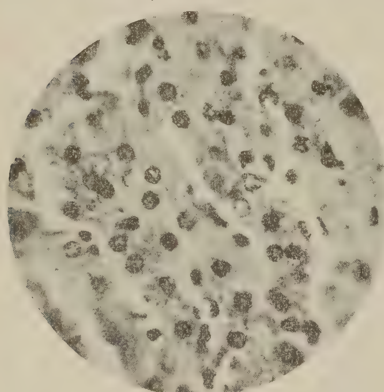


Fig. 2.

Durch eine Reihe von Tierversuchen wurde nun der Beweis erbracht, daß der beschriebene Mikroorganismus der Erreger der erwähnten Epizootie ist.

Die Prüfung auf Tierpathogenität des Organismus wurde an Meerschweinchen, ferner Kaninchen und weißen Mäusen vorgenommen. Am schnellsten erlagen die Tiere bei intraperitonealer Infektion. 5 Meerschweinchen wurden mit 0,25 bis 1,0 ccm frischen Bouillonkultur, eine weiße Maus mit $^{4}/_{400}$ einer 2-tägigen Agarstrichkultur intraperitoneal infiziert. Sämtliche Tiere starben nach 12—48 Stunden. Bei der sogleich p. m. vorgenommenen Sektion fand sich in den meisten Fällen ein erhebliches blutig-seröses oder rein seröses Exsudat in der Bauchhöhle, in 2 Fällen ein blutig-seröses Exsudat auch im Brustfellraum. Der Befund an den einzelnen Organen entsprach im wesentlichen dem bei den spontan im Tierstalle eingegangenen Tieren. An der Impfstelle bestand regelmäßig ein ausgedehntes sulziges Oedem in der Bauchmuskulatur mit starken Hämorrhagieen.

In Organsaftausstrichen von sämtlichen Organen und in den Exsudaten fand ich die beschriebene Bakterienart in Reinkultur wieder, in den Exsudaten besonders reichlich, am spärlichsten im Herzblute. Bei der Untersuchung von Organschnitten ergab sich ein gleicher Befund wie beim Ausgangstiere.

Subkutan wurden 3 Meerschweinchen mit 0,2—1,0 ccm einer frischen Bouillonkultur, ein Kaninchen und eine weiße Maus mit je einer Platinöse einer frischen Agarstrichkultur infiziert. Die Meerschweinchen

starben nach 5—6 Tagen, die übrigen Tiere nach 4 Tagen. Die beobachteten Krankheitserscheinungen bestanden in Temperatursteigerung, Abnahme der Freßlust und des Körpergewichtes. Bei der Sektion fanden sich an der Impfstelle subkutan Gewebsinfiltrationen mit ausgedehnten Hämorrhagieen, zum Teil auch eitrige Abscesse. Der Sektionsbefund war viel ausgesprochener und charakteristischer als die bisher angeführten. Pleura und Peritoneum zeigten dicke fibrinös-eitrige Auflagerungen, Pleura und Pericard waren meist verwachsen, die Lungen waren stark hyperämisch. Milz und Leber waren stark vergrößert, von brüchiger Konsistenz, zum Teil von größeren und kleineren nekrotischen Herden durchsetzt. Zwischen den Darmschlingen lagen zahlreiche freie Eiterflocken. In dem Eiter der subkutanen Abscesse, im Blute und in sämtlichen Organen fand sich das beschriebene Bakterium.

Eine intravenöse Injektion von 0,2 ccm einer 2 Tage alten Bouillonkultur tötete ein Kaninchen nach 24 Stunden. Die Sektion ergab in jeder Beziehung den typischen Befund.

2 Meerschweinchen wurden mit 0,8 ccm einer 2-tägigen Bouillonkultur per os, 1 durch Einreiben je einer Platinöse einer frischen Agarstrichkultur in beide Nasenlöcher infiziert. Diese Tiere, welche fast zu gleicher Zeit infiziert wurden, starben sämtlich nach etwa 6 Wochen. Außer Abmagerung und erhöhter Körpertemperatur ließen sich besondere Krankheitserscheinungen nicht beobachten. Bei den per os infizierten Tieren fand sich in dem gleich nach der Infektion öfter untersuchten Kote nicht das spezifische Bakterium. Die Sektion ergab bei allen Hyperämie der Lungen, Atrophie und in einem Falle völlige Nekrose der Leber, Atrophie der Milz, Hypertrophie der Nieren, nirgends Entzündung der serösen Häute, also ein von dem typischen Sektionsbefunde bei den übrigen infizierten Tieren sehr abweichendes Bild. In Ausstrichpräparaten fand sich der von mir beschriebene Mikroorganismus nicht, auch konnte ich denselben aus dem Tierkörper nicht herauszüchten; es fanden sich vielmehr Kokken verschiedener Größe. Ob wir es hier mit einer chronisch-toxischen Wirkung zu thun haben, die auch noch fortdauert, wenn die Bakterien selbst schon im Tierkörper zu Grunde gegangen sind, kann nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Auf den Befund von Kokken verschiedener Größe konnte nicht näher eingegangen und so auch nicht entschieden werden, ob dieselbe primär den Tod der Tiere verursacht oder sekundär sich in den durch die Impfung mit meinem Bakterium geschwächten Tieren angesiedelt haben, was wahrscheinlich ist.

Während die angeführten Impfversuche den Tod der infizierten Tiere zur Folge hatten, haben 2 Versuche bisher noch zu keinem definitiven Ergebnisse geführt. Es handelt sich um 2 Meerschweinchen, von denen das eine am 12. Juni d. J. subkutan mit 1 ccm einer 1-tägigen Bouillonkultur, zum zweiten Male am 23. Juli mit 3 ccm einer durch längere Züchtung auf künstlichen Nährböden abgeschwächten Bouillonkultur und endlich am 29. Juli mit 1 ccm einer virulenten Bouillonkultur ebenfalls subkutan infiziert wurde. An den Impfstellen haben sich subkutane Infiltrationen gebildet, sonst zeigten sich bei dem Tiere keine Krankheitserscheinungen. Das zweite Meerschweinchen erhielt am 3. Juni eine Einreibung mit einer Aufschwemmung einer frischen Agarstrichkultur in die rasierte Bauchhaut, was nur eine Induration der Haut an dieser Stelle zur Folge hatte. Zum zweiten Male

wurde das Tier ebenfalls am 29. Juli mit 1 ccm einer virulenten Bouillonkultur subkutan infiziert, ist aber gesund geblieben. Ein Kontrollmeerschweinchen, dem die gleiche Dosis wie den beiden erstgenannten Meerschweinchen subkutan injiziert wurde, ging nach 4 Tagen zu Grunde. Daraus ist der Schluß zu ziehen, daß es sich bei diesen beiden Meerschweinchen um einen nicht unbeträchtlichen Immunitätsgrad handelt. Ueber die mit dem Blutserum dieser Tiere angestellten Agglutinationsversuche kann noch nicht abschließend berichtet werden, weil sich in dieser Hinsicht mancherlei unvorhergesehene Schwierigkeiten ergeben haben.

Der von mir beschriebene Mikroorganismus ist demnach als eine weitere Ursache des in vielen Laboratorien und Tierställen, hauptsächlich in den Winter- und Frühjahrsmonaten beobachteten Sterbens von Versuchstieren anzusehen.

Das Zustandekommen der Ausgangsinfektion hat man sich wohl so vorzustellen, daß die durch eine absichtliche Infektion oder auch Nässe oder Kälte mehr oder weniger geschädigten Tiere unserem Mikroorganismus wenig Widerstand leisten konnten und so das eine oder andere Tier erlag. Dadurch kam in dem zuerst erkrankten Tiere eine Steigerung der Virulenz des Organismus zustande, was wieder eine Ansteckung auch von gesunden Tieren leicht zur Folge hatte.

Auf welchem Wege im genaueren die Infektion zustande gekommen ist, ist aus den Sektionsbefunden mit Bestimmtheit nicht zu entnehmen. Die stets vorhandene starke Hyperämie der Lungen spricht in gewissem Grade dafür, daß der Mikroorganismus per respirationem übertragen wurde, andererseits aber kann bei dem häufigen Vorkommen von Verletzungen bei den zusammenlebenden Tieren (durch Beißen und Kratzen) die Möglichkeit einer Infektion auf subkutanem Wege nicht ausgeschlossen werden, zumal sich bei den künstlichen Infektionen dieser letzte Infektionsmodus, wie die einschlägigen Sektionsbefunde beweisen, als äußerst unwirksam erwiesen hat.

Nach dem ganzen pathologisch-anatomischen Befunde ist die durch das beschriebene Bakterium ausgelöste Erkrankung wohl als hämorrhagische Septikämie aufzufassen. Der Mikroorganismus selbst fällt seinen Eigenschaften nach unter die zweite Abteilung der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie, nämlich unter die unbeweglichen Bacillen, die eigentlichen, von Hueppe[1]) sogenannten Bakterien der hämorrhagischen Septikämie. Denn er hat mit denselben außer den diese Gruppe im allgemeinen kennzeichnenden Eigenschaften (keine Sporenbildung, negativer Ausfall der Gram-Färbung, fakultativ anaërobes Wachstum, keine Verflüssigung der Gelatine) noch die Unbeweglichkeit, die Form und das mangelhafte Oberflächenwachstum auf Gelatine gemeinsam, ferner die Eigenschaft, daß er sich, wie oben erwähnt, bisweilen bipolär färbt; von den meisten Angehörigen derselben Gruppe unterscheidet er sich durch sein gutes Wachstum auf Kartoffeln. Die größte Aehnlichkeit zeigt unser Bakterium mit dem zu derselben Gruppe gehörigen, von Beck[2]) bei einer in einem Kaninchenstall auftretenden Seuche gefundenen Bacillus cuniculi pneumonicus. Beide zeigen fast gleiches Wachstum auf Agar und in Bouillon, vertragen Erhitzen über 50° nicht und ähneln sich auch morphologisch. Jedoch ist

1) Berl. klin. Wochenschr. 1886. No. 44.
2) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XV.

der Beck'sche Bacillus ein strenger Aërobier und wächst auf Kartoffeln gar nicht. Beide sind für die gewöhnlichen kleineren Versuchstiere des bakteriologischen Laboratoriums sehr virulent, unterscheiden sich aber bezüglich des Infektionsmodus dadurch, daß bei dem Beck'schen Bacillus die intraperitoneale Infektion ganz ohne Ergebnis ist und die subkutane nur weitgreifende Abscesse verursacht, an denen die Tiere ohne Allgemeininfektion zu Grunde gehen, während unser Bacillus in gleicher Weise bei subkutaner wie bei intraperitonealer Impfung rasch die Tiere durch Allgemeininfektion tötet.

Morphologisch und im Färbungsverhalten ähnelt unser Bakterium auch dem Bacillus cholerae gallinarum; jedoch bestehen besonders im Wachstume zwischen beiden so zahlreiche und deutliche Unterschiede, daß eine Verwechselung ausgeschlossen ist.

Ich schlage vor, unseren Mikroorganismus, der meines Wissens noch nicht beschrieben ist, Bacterium cavisepticum zu nennen.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Medizinalrat Professor Dr. Wernicke für die Ueberweisung der Arbeit und die liebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung derselben meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

---



# Die Bakterienflora der gesunden und kranken Nasenschleimhaut.

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsstation des Garnisonlazarettes Würzburg, Stabsarzt und Privatdocent Dr. Dieudonné.]

Von Dr. **Wilh. Hasslauer,** Stabsarzt im 16. Inf.-Reg.

Bakteriologische Untersuchungen über die Bakterienflora der Nasenschleimhaut liegen verhältnismäßig wenige vor, weshalb es von einigem Interesse erschien, dahingehende Untersuchungen anzustellen. Die eigentliche Veranlassung zur Entstehung dieser Arbeit gab anfangs dieses Jahres die im Laufe der drei letzten Jahre gemachte Beobachtung, daß der Abgang an dienstunbrauchbaren bezw. invaliden Mannschaften des Bekleidungsamtes, insbesondere der Schneiderabteilung, infolge Lungentuberkulose das Verhältnis gegenüber der Schuhmacherabteilung und noch vielmehr gegenüber der Truppe weit überschritt. Wohl ist dabei nicht außer acht zu lassen, daß zu Oekonomiehandwerkern meist Leute von schwächlichem Körperbau ausgehoben werden. Da nun auf der Schneiderabteilung je 110 Mann in zwei großen Arbeitssälen, die allerdings mit allen hygienischen Anforderungen entsprechenden Ventilationseinrichtungen versehen sind, zusammensitzen, lag die Möglichkeit nahe, auf der Nasenschleimhaut Tuberkelbacillen nachzuweisen. Deshalb wurde in erster Linie bei einer größeren Anzahl von Schneidern das Naseninnere auf seinen Bakteriengehalt untersucht und dieser Untersuchungsreihe eine Anzahl von Schuhmachern, Schreinern etc. sowie auch ein Teil aktiver Mannschaften gegenübergestellt, um allenfalls einen Einfluß verschiedener Lebensbedingungen, Arbeiter, die ständig in geschlossenen Räumen und in großen Massen beisammensitzen und Mannschaften, die den größten Teil des Tages sich in der freien Luft

bewegen, feststellen zu können. Die Untersuchungen hatte ich bereits abgeschlossen, als die Arbeit Neumann's[1]) erschien. Die Veröffentlichung dieses Aufsatzes verzögerte sich leider aus äußeren Gründen.

Bei Vornahme der Untersuchungen wurde folgender Weg eingeschlagen. Erst erfolgte eine Feststellung des Nasenbefundes, jeder Nasenhälfte für sich, und dann ging es an die Entnahme der zur Untersuchung bestimmten Proben. Mit einer ausgeglühten Platinöse wurde die untere Muschel sowie die dieser gegenüberliegenden Teile der Nasenscheidewand bestrichen, dabei ziemlich weit nach hinten gehend. Davon wurden 2 Ausstriche auf Objektträger gemacht behufs Untersuchung bei einfacher Färbung mit Karbolfuchsin sowie bei Färbung auf Tuberkelbacillen. Ebenso wurde ein Ausstrich auf Glycerinagar gemacht. Alsdann wurden gleiche Ausstriche gemacht von Proben, die mit der Platinöse aus der Regio olfactoria entnommen worden waren. Gestatteten Deformitäten der Nasenscheidewand oder Hypertrophieen der mittleren Muschel das Eingehen in die Regio olfactoria nicht, dann geschah die Entnahme aus dem mittleren Nasengang. Jede Nasenhälfte wurde gesondert untersucht. Nach Erscheinen der Neumann'schen Arbeit schloß sich diesen Untersuchungen noch eine Reihe von Fällen an, bei denen nach dem Verfahren Neumann's durch Herausniesenlassen vorgegangen wurde.

Im ganzen wurden untersucht 84 Leute und zwar 35 Schneider, 9 Schuster und Schreiner, 20 aktive Mannschaften und schließlich 20 Mann des Krankenwärter- und Sanitätspersonals des Garnisonlazarettes. Davon hatten vollständig gesunde Nasen 37 Mann, weitere 8 Mann wiesen auf der einen Nasenhälfte krankhafte Veränderungen auf, während die andere gesund war. Bei 40 Leuten fanden sich beiderseits krankhafte Veränderungen, bei weiteren 8 nur einseitig. An krankhaften Veränderungen wurde in erster Linie auf akut entzündliche Veränderungen der Nasenschleimhaut mit Hyperämieen, Auflockerung der Schleimhaut und vermehrter Sekretion gefahndet und derartige Leiden in 12 Fällen doppelseitig festgestellt, in weiteren 10 Fällen einseitig (Rhinitis acuta). In 11 Fällen fanden sich doppelseitige chronische Schwellungszustände der Nasenmuscheln ohne entzündliche Erscheinungen der Nasenschleimhaut, also Folgezustände abgelaufener und öfter recidivierter Nasenkatarrhe, bei 7 weiteren Fällen fanden sich solche Veränderungen einseitig (Rhinitis chronica, Hypertroph. conch.). Ausgesprochene atrophische Prozesse (Rhinitis atrophicans simpl. und Ozaena) wurden bei 3 Leuten doppelseitig festgestellt. Diesem Krankheitsprozeß nahe kommende Erscheinungen, wie Krustenbildung, Ansammlung größerer Schleimmassen, firnißartiger Ueberzug oder einzelliegende Stippchen, wiesen 4 Leute doppelseitig, 5 Leute einseitig auf. Inwieweit Nebenhöhlenaffektionen zu Grunde lagen, wurde nicht weiter verfolgt. Mit chronisch entzündlicher Veränderung der Nasenschleimhaut, Hyperämie, Schwellung der gesamten Schleimhaut und Muscheln mit gesteigerter Sekretion, die durch fortgesetzten Gebrauch von Schnupftabak unterhalten wird, waren 13 Leute behaftet, davon 1 einseitig. Während nun die chronischen Schwellungszustände der Nase mangels jeglicher Entzündungserscheinungen bezüglich des bakteriologischen Verhaltens der Nasenschleimhaut

1) Bakteriologische Untersuchungen gesunder und kranker Nasen, mit besonderer Berücksichtigung des Pseudodiphtheriebacillus. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XL. p. 33.)

den gesunden Nasen angereiht wurden, zählte man die eben erwähnten Schnupferrhinitiden den akuten Rhinitiden zu.

Unter den gefundenen Bakterien waren folgende Arten vertreten:

Staphylococcus pyogenes albus und aureus, Streptococcus pyogenes, Streptococcus lanceolatus s. Diplococcus pneumoniae Fraenkel, Bacillus der Pseudodiphtherie, Bacterium pneumoniae Friedländer, Bact. haemorrhagicum, Sarcine, gelbe und weiße, Luftkokken, Subtilis, Schimmelpilze, Fäulnisbakterien, Spirillen.

An 111 normalen Nasenhälften wurden 186 bakteriologische Untersuchungen vorgenommen, an 78 kranken Nasenhälften 153.

Es fanden sich:

| bei normalen Nasen | | | | bei kranken Nasen | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| in 32 Fällen | = 17,2 Proz. | Streptococcus pyogenes | in 79 Fällen | = 51,6 Proz. |
| „ 37 „ | = 19,9 „ | Diplococcus pneum. | „ 76 „ | = 49,7 „ |
| „ 47 „ | = 25,3 „ | Staphyloc. pyog. albus | „ 63 „ | = 41,2 „ |
| „ 24 „ | = 12,9 „ | Pseudodiphtheriebacillus | „ 58 „ | = 37,9 „ |
| „ 21 „ | = 11,3 „ | Subtilis | „ 38 „ | = 24,8 „ |
| „ 15 „ | = 8,0 „ | Staphyloc. pyog. aureus | „ 7 „ | = 4,6 „ |
| „ 13 „ | = 7,0 „ | Bact. pneumon. Friedl. | „ 12 „ | = 7,8 „ |
| „ 11 „ | = 5,9 „ | Sarcina aurea und alba | „ 6 „ | = 3,9 „ |
| „ 56 „ | = 3,2 „ | Luftkokken | „ 2 „ | = 1,3 „ |
| | | Bact. sept. haemorrhag. | „ 5 „ | = 3,3 „ |
| | | Schimmelpilze | „ 3 „ | = 1,9 „ |
| „ 2 „ | = 1,1 „ | Fäulnisbakterien | | |
| | | Spirillum concentr. | „ 1 „ | = 0,6 „ |
| „ 8 „ | = 4,3 „ | steril | „ 5 „ | = 3,3 „ |

Am häufigsten sind also vertreten der Streptococcus pyogenes, der Diplococcus pneumoniae Fraenkel s. Streptococcus lanceolatus, der Staphylococcus pyogenes albus und der Pseudodiphtheriebacillus.

An zweiter Stelle findet sich der Subtilis.

In erheblich geringerer Anzahl sind vorhanden:

Das Bacterium pneumoniae Friedländer, das Bacterium septic. haemorrhagicum, Sarcine, der Staphylococcus pyog. aureus und ein Luftcoccus.

Vereinzelt finden sich noch vor:

Ein Schimmelpilz, Fäulnisbakterien und Spirillen. Steril waren die Kulturen in 8 Fällen der normalen und in 5 Fällen der affizierten Nasen.

Das Mengenverhältnis der von den verschiedenen Stellen der Nasenschleimhaut entnommenen Proben an Bakterien hält sich fast durchweg in bestimmten Grenzen, d. h. es finden sich gewöhnlich mehrere Bakterienarten zusammen, doch nicht mehr wie 3—4 Arten. Unter dieser Gesellschaft verschiedener Arten ist gewöhnlich eine Art im Uebergewicht und zwar in erster Linie der Staphylococcus pyogenes albus und der Diplococcus pneumoniae, dann der Pseudodiphtheriebacillus und der Streptococcus pyogenes. Wohl steht letztgenannte Art, was Häufigkeit anbelangt, an erster Stelle, doch ist sie der Hauptsache nach mehr als Nebenbefund verzeichnet und nur in geringer Stärke vertreten. Bezüglich der Häufigkeit seines Uebergewichtes kommt der Streptococcus erst an 3. Stelle und der Pseudodiphtheriebacillus erst an 4. Stelle. Der Staphylococcus pyogenes albus und der Diplococcus sind in dieser Beziehung weit voran. Reinkulturen an den verschiedenen Stellen der Nase wurden überhaupt

sehr wenige erzielt, gewöhnlich fanden sich, wie schon erwähnt, mehrere Arten auf einer Stelle der Nasenschleimhaut zusammen. An Reinkulturen ist der Pseudodiphtheriebacillus an erster Stelle, dann kommt aber sofort das Bacterium pneumoniae Friedländer und nun erst nach einem größeren Abstand der Diplococcus, während der Staphylococcus pyogenes albus, aureus und der Streptococcus, die in Gesellschaft anderer Bakterienarten teilweise so sehr im Uebergewicht sind, in Reinkultur in verschwindenden Zahlen vorhanden sind.

Die Beteiligung des Pseudodiphtheriebacillus ist wohl eine große, doch nicht in dem Grade, wie es Neumann festzustellen in der Lage war. Noch auffallender aber war, daß in keinem einzigen Falle, in denen die Proben durch Herausniesenlassen gewonnen, Pseudodiphtherie erzielt wurde, wohl aber bei der örtlichen Entnahme. Dagegen ergaben auch meine Untersuchungen, daß in gesunden wie kranken Nasen dieselben Bakterien sich befinden, deren Prozentverhältnis gegenüber den gesunden Nasen bei kranken ein wesentlich höheres ist. Daraus läßt sich wohl der Schluß ziehen, daß zum Zustandekommen der entzündlichen Erscheinungen auf der Nasenschleimhaut (Schnupfen) nicht allein die Anwesenheit der gefundenen pathogenen Arten notwendig ist, sondern daß die auf der normalen Nasenschleimhaut vorhandenen pathogenen Keime entweder sich in einem avirulenten Zustande befinden oder in nicht genügender Menge, und daß sie erst durch andere äußere Veranlassungen ihre Virulenz wiedererhalten und sich vermehren (Schwächung des Körpers nach Allgemein- und Infektionskrankheiten, Erkältungen und traumatischen Einflüssen). Eine Vermehrung der Bakterien gegenüber der auf der normalen Nasenschleimhaut konstatierten gleichen Keimarten wenigstens ist bei den kranken Nasen zu verzeichnen.

Auf keiner der untersuchten Nasenschleimhäute sämtlicher Mannschaften konnten Tuberkelbacillen nachgewiesen werden. Selbst bei einem Manne (Schneider), der wegen schon vorgeschrittener Lungen-Darmtuberkulose sich in Lazarettbehandlung befand und dessen linke untere Muschel mit einem ganz dünnen firnisartigen Ueberzug und von zahlreichen stecknadelkopfgroßen weißen Pünktchen bedeckt war, gelang der Nachweis von Tuberkelbacillen nicht. Ebensowenig war bei dem Wärter dieses Kranken, der auf dem vorderen Ende der rechten unteren Muschel dieselben weißen Stippchen wie der Kranke und der auch links Krustenbildung aufwies, ein diesbezügliches Resultat zu erzielen. Bei dem Tuberkulösen wurde in dem beschriebenen Ueberzug eine zur Gruppe der hämorrhagischen Septikämie gehörige Bakterienart mit abgerundeten Ecken und sehr schöner Polfärbung festgestellt. Der Traubenzuckerstich zeigte nagelkopfförmiges häutiges Wachstum ohne Gasbildung. Auf der Originalagarkultur fanden sich als Nebenbefund noch Pseudodiphtheriebacillen, Diplokokken und nach 3 Tagen noch Subtilis, welch letzterer sich auch auf den Stichen einstellte. Eine vom Originalausstrich geimpfte Maus ging am 2. Tage ein und hatte im Herz- und Milzblut, sowie an der Impfstelle Diplokokken, teilweise in Streptokokkenform. Bei dem Wärter wurden der Bacillus der Pseudodiphtherie und der Staphyl. pyog. aureus nachgewiesen.

Wie oben schon gesagt, zeigte sich der Bakteriengehalt der akutentzündeten (Rhinitis acuta), sowie der chronisch entzündlichen (Schnupferrhinitis) Nasenschleimhaut gegenüber der gesunden mehr oder weniger vermehrt, so hauptsächlich der Diplococcus pneum., der Strepto-

coccus pyog. und der Bacillus der Pseudodiphtherie. Der Staphyl. pyog. alb. und aur. ist auf der gesunden Nasenschleimhaut dagegen häufiger anzutreffen, ebenso das Bact. pneumon. Friedländer. Letzteres fand sich außerdem bei einem typischen Ozaenafall, wenigstens zeigte er dasselbe kulturelle Verhalten wie das B. pneumon.[1]), der Tierversuch fiel negativ aus. Ein weiterer Ozaenafall, sowie die übrigen atrophischen Prozesse bezw. Krusten- oder Schleimbildung zeigenden Fälle unterschieden sich in nichts von dem bakteriologischen Verhalten der übrigen kranken oder gesunden Nasenschleimhäute.

Bei den Schnupfenfällen finden sich dieselben Keime wie auf der normalen Nasenschleimhaut, nur in größerer Menge, ein Punkt, der weiter oben schon erörtert wurde. Den einen oder anderen pathogenen Keim aber als spezifischen Erreger anzusprechen, dafür haben sich keine Anhaltspunkte ergeben.

Der in einem großen Teil der Fälle festgestellte Bacillus der Pseudodiphtherie trat in zwei Arten auf, einer schneller und üppiger wachsenden Form mit größeren Stäbchen und einer zarten, langsam wachsenden Form mit schlanken und kleinen Stäbchen. Die erste Form zeigte schon am 1. Tage ein reichliches Wachstum, während bei der zweiten Form ein sichtbares Wachstum erst am 2. oder 3. Tag zu konstatieren war. Oft konnte von der kein sichtbares Wachstum zeigenden Agaroberfläche ein positives Resultat erzielt werden. Außer auf Grund der Form und Größe der Stäbchen wurde die Diagnose „Pseudodiphtherie“ gestellt nach dem Ausfall der Körnchenfärbung nach Neisser, ferner nach dem Wachstum auf Glycerinagar und der stets vorhandenen, dauernden, beträchtlichen Säurebildung. Auf das wichtigste Unterscheidungsmerkmal, den Tierversuch, mußte leider verzichtet werden, wegen augenblicklichem Mangel an Tiermaterial. Doch dürfte auch ohne diesen auf Grund obiger Merkmale die Diagnose sichergestellt sein.

Um nochmals auf die eingangs der Arbeit erwähnte Frage nach dem Einfluß der Lebensverhältnisse auf den Bakteriengehalt des normalen Naseninneren zurückzukommen, erübrigt nur noch eine gleichgroße Anzahl Schneider und aktive Mannschaften einander gegenüberzustellen. Dabei stellte sich heraus, daß der Gehalt an Diplokokken, Streptokokken und Pseudodiphtheriebacillen vollkommen gleich ist, dagegen der Gehalt an Staph. alb. und aur., sowie an Bact. pneum. Friedländer bei den Schneidern bedeutend überwiegt, doppelt soviel, 4mal bezw. 7mal mehr. Die aktiven Mannschaften wieder zeigen 3mal soviel Bac. subtilis wie die Schneider, jedenfalls bedingt durch öfteren und längeren Aufenthalt im Freien. Irgend welche Schlüsse aus diesen Resultaten zu ziehen, dafür fehlen vorläufig die Anhaltspunkte.

---

1) Klemperer und Scheier, Ueber die Identität der Ozaena- und der Rhinosklerombacillen mit Friedländer'schen Bacillen. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XLV. 1902.)

*Nachdruck verboten.*

# The etiology of the summer diarrheas of infants.

[From the Laboratory of the Thomas Wilson Sanitarium and the Rockefeller Institute of Medical Research.]

A preliminary report.

By

**C. W. Duval,** University of Pennsylvania and **V. H. Bassett,** Johns Hopkins University.

We desire to make a brief preliminary report of an investigation, conducted under a grant from the Rockefeller Institute of Medical Research, upon the summer diarrheas of infants. We are indebted to Prof. Flexner for his interest in our work and the promotion of the investigation. This research was made at the Thomas Wilson Sanitarium, Mount Wilson, Baltimore County, Maryland, a charitable institution where several hundred infants sick with summer complaint are treated each season. We wish to express our thanks to Dr. J. H. Mason Knox, physician in charge, for the opportunity of studying these cases.

A careful study of the bacterial flora of a number of these cases was made, and from 42 typical cases of summer diarrhea we succeeded in isolating from the stools Bacillus dysenteriae Shiga. The specific organism was secured, also, from scrapings of the intestinal mucosa at autopsy, and in one case from the mesenteric glands and liver. The dysenteric bacillus was present often in large numbers in the stools of acute cases, but was secured with difficulty from cases of mild character and those of long duration on account of its presence in relatively small numbers and the antagonism of the normal intestinal bacteria. The specific bacilli isolated from different cases of the disease are identical, and agree in morphology, cultural features, pathogenic properties, and reaction to specific serum with the dysenteric bacillus isolated from cases of acute dysentery in adults by Shiga in Japan, Flexner and Strong in the Philippines, Kruse in Germany, and lately by Vedder and Duval in this country. Agglutinative reactions were obtained when the organisms were tested a) with the blood serum of the patients from whom they were secured, b) with the serum of other infants suffering from summer diarrhea, c) with the serum of adult patients with acute dysentery, d) with antidysenteric immune serum. The specific bacillus was not found in the stools of 25 healthy children, nor of those suffering with simple diarrhoea, marasmus and malnutrition; nor did the blood serum of these latter individuals agglutinate the dysenteric bacillus.

We believe our findings justify us in the conclusion that the summer diarrheas of infants are caused by intestinal infection with Bacillus dysenteriae Shiga, and therefore are etiologically identical with the acute bacillary dysentery of adults. The cases studied, from which the dysentery bacillus was isolated, include examples of socalled dyspeptic diarrhea, of enterocolitis, and of malnutrition and marasmas with superimposed infection.

A full report of our investigation will be published in the Journal of experimental medicine.

---

# Zur Kenntnis des Genus Wageneria Monticelli und anderer Cestoden.

Von Dr. **Ludwig Cohn** in Greifswald.

Mit 7 Figuren.

## *Wageneria impudens* (Crep.).

In der hiesigen Helminthensammlung, deren Bestand fast ausschließlich auf die Sammlerthätigkeit von Creplin zurückgeht, von dem auch das Meiste bestimmt ist, fand ich zwei Gläser, welche mit *Monostomum impudens* Crepl. und *Distomum foliiforme* Crepl. etikettiert waren (No. XIII g 3 A und No. XV " " A der Sammlung). Bei beiden ist als Fundort „ex intestinis Squali grisei, coll. Otto" angegeben. Mir fielen die Gläser auf, da die Namen nur als nomina nuda publiziert sind, während die Arten Creplin's sonst immer mehr oder weniger gut beschrieben sind[1]). Das Rätsel löste sich allerdings bei näherer Untersuchung der betreffenden Helminthen: es sind nämlich gar keine Trematoden, sondern isolierte, frei im Darm lebende Proglottiden zweier verschiedener Selachiercestoden. Bei dem einen hatte die Ausmündung des Exkretionsapparates Creplin eine Mundöffnung vorgetäuscht — sein *Monostomum*; bei dem anderen, dessen Form ein *Distomum* imitiert, hatte Creplin die flächenständige Uterusöffnung für einen Bauchsaugnapf gehalten. Da er aber bei solcher Deutung die innere Organisation selbstredend mit dem sonstigen Trematodenschema nicht vereinbaren konnte, so gab er den Helminthen wohl Namen, beschrieb sie aber nicht. Sonst griff er bei der Namengebung immer auf charakteristische Merkmale zurück; der seltsame Name *impudens* ist wohl nur ein Ausdruck seines berechtigten Aergers.

Insbesondere dieser als *Monostomum impudens* bezeichnete Cestode war mir von Interesse, da ich in ihm einen neuen Vertreter des noch wenig bekannten Genus *Wageneria* Mont. erkannte, über welches Lühe unlängst[2]) einen ausführlichen Exkurs bei Publikation seiner *Wageneria porrecta* veröffentlichte. Meine Art ist dieser sowie der *Wageneria proglottis* (Wag.) nahe verwandt, ohne aber mit einer derselben identisch zu sein.

Im Glase XIII g 3 A fand ich eine Anzahl lanzettförmiger Proglottiden (viele zerbrochen), die bis zu 4 mm lang und an dem einen Ende breit abgerundet, an dem anderen (hinteren) zugespitzt sind. Die Breite ist in der Mitte am größten, 0,4 mm, an den beiden Endstrecken (die Spitze ausgenommen) etwa gleichmäßig, vorn 0,2, hinten 0,15 mm. Die Glieder sind stark abgeflacht, wie es bei allen Wagenerien der Fall ist. Meist tritt eine seitliche Krümmung in der Flächenebene auf, und zwar ist der Rand, an dem die Genitalporen liegen, konvex vorgebuchtet. Die Genitalöffnungen liegen etwa auf der Höhe der Wölbung. Der Erhaltungszustand ist sehr mäßig, die Cuticula meist zerstört.

Immerhin konnte ich feststellen, daß die Cuticula kleine Haken

1) Archiv für Naturgeschichte. Jahrg. XII. Bd. I. 1846. p. 149. Da Creplin's Name *Dist. foliiforme* prioritätsberechtigt ist, so hat *Clinostomum foliiforme* Brn. einen anderen Speciesnamen zu erhalten.

2) Lühe, M., Urogonoporus armatus, ein eigentümlicher Cestode aus Acanthias. (Arch. d. Parasitologie. T. V. Paris 1902. p. 236—249.)

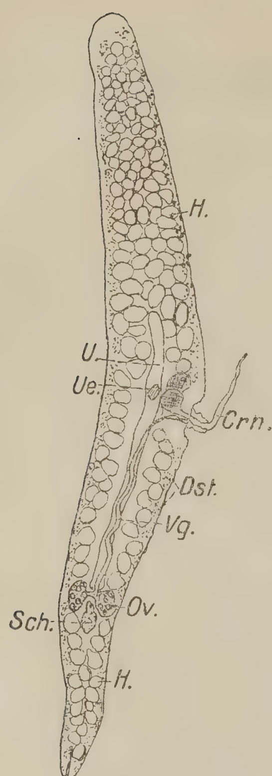



Fig. A 1.



Fig. A 2.

Fig. 1. Flächenschnitt. *Dst.* Dotterstock. *Crh.* Cirrhus. *H.* Hoden. *Ov.* Ovarium. *Sch.* Schalendrüse. *U.* Uterus. *U.* Uterusei. *Vg.* Vagina.
Fig. 2. Haken von der Cuticula. $^{560}/_{1}$.

trägt, deren Häufigkeit an den verschiedenen Stellen der Proglottis wegen des Erhaltungszustandes allerdings nicht mehr festzustellen ist. Vereinzelt fand ich sie aber sowohl vorn, wie hinten; sie sind konisch und sehr klein, 0,01 mm (Fig. 2). In Bezug auf die Oberflächenbeschaffenheit der Cuticula bei Wagenerien bestand bisher ein Gegensatz zwischen den Angaben von Lühe und Monticelli. Wagener[1]) gab für seine *Ligula* (*Wageneria*) *proglottis* einen Haarbesatz vom Vorderende bis an die Mitte der Länge an; Monticelli[2]) untersuchte nochmals die Originalexemplare und stellte fest, daß es sich nicht um Härchen, sondern um kleine Stacheln handele. Hierauf konstatierte Lühe[3]) bei seiner *Wag. porrecta*, daß die ganze Oberfläche „dicht mit feinen Härchen besetzt, bezw. in zahllose dichtstehende „Spitzchen“ (Looss) ausgezogen“ ist. Auf Grund dessen glaubte er Monticelli nicht dessen Auslegung des Körperbesatzes als Stacheln bei *Wag. proglottis* und meint: „jedenfalls aber muß betont werden, daß es sich nicht um in die Cuticula eingesenkte Stacheln handelt, wie bei dem Stachelkleide so vieler Distomen, sondern nur um Fortsätze der Cuticula, durchaus analog denjenigen, welche Looss .... für *Haematoloechus asper* abgebildet hat“. Nun finde ich bei meiner *Wageneria* Stacheln in der Cuticula und glaube daher, daß beide Autoren im Rechte sind: warum sollte auch das Vorkommen von Stacheln bei einer *Wageneria* das Vorkommen von „Härchen“ bei einer anderen ausschließen? Lühe verweist selbst auf die „Spitzchen“ bei *Haemat. asper*; dieser aber ist mit *Haemat. similis* seiner ganzen Organisation nach sehr nahe verwandt, und *Haemat. similis* hat dabei Haken in der Cuticula, wenn diese auch nicht die ganze Dicke der Cuticula durchdringen. Beide Arten stehen dem *Haemat. variegatus*, mit dem sie ja bisher vereinigt waren, sehr nahe — und

1) Wagener, G. R., Cestodeorum evolutio. (Nova Acta Acad. Leop. Carol. 1854. Suppl.)
2) Monticelli, F. S., Appunti sui Cestodaria. Neapel 1892.
3) Lühe, M., l. c. p. 238 und 247.

diese Art wieder hat eine ganz glatte Cuticula. Der Weg von der glatten Haut bis zur Zerspleißung derselben in Spitzchen und dann bis zur Einlagerung von Haken ist also kein weiter, und es soll mich nicht wundern, wenn sich auch noch Wagenerien mit ganz glatter Cuticula finden.

Und die Bestachelung der Cuticula auf den Proglottiden, die den Cestoden im allgemeinen fehlt, findet sich bei denen der Selachier häufiger, als man nach den bisherigen einschlägigen Litteraturangaben annehmen könnte. Nicht nur, daß in meiner *Wageneria* nunmehr ein zweiter Fall (abgesehen von dem halbbestachelten *Urogonoporus armatus*) vorliegt; ich verweise auf die unten folgende Beschreibung des zweiten *Squalus*-Parasiten, der ganz die gleichen Stacheln in der Cuticula hat. Um hierüber möglichst viel Material zusammenzubringen, durchsuchte ich die hiesige Sammlung nach weiteren Selachier-Cestoden: im Anschluß an die beiden mir nur in ihren freilebenden Proglottiden bekannten gebe ich zum Schluß als vorläufige Mitteilung die Beschreibung eines neuen Tetrabothriiden aus *Squalus acanthias*, der in seiner ganzen Länge, an jungen und geschlechtsreifen Proglottiden, nur den Kopf und einen Teil des Halses ausgenommen, mit langen, dichtstehenden, typischen Stacheln, mit je zwei Wurzelfortsätzen, bedeckt ist — die Stacheln der freilebenden Proglottiden können also auch der Gesamtstrobila zukommen, nicht nur Anpassung der Einzelproglottis sein. Außerdem fand ich noch einen fälschlich als *Bothriocephalus* (*Acanthobothrium*) *coronatus* Rud. bestimmten Cestoden, ebenfalls aus *Squalus acanthias*, den ich demnächst beschreiben werde: seine ganze Gliederkette, einschließlich des Collum, ist mit typischen, die Cuticula durchsetzenden Stacheln bedeckt. Und zum dritten dann noch einen Cestoden in Bruchstücken der Kette aus *Squalus* sp. *indicus*, der sich durch seine Proglottiden als dritte Art kennzeichnet, wenn auch der Scolex fehlt — und auch hier volle Bestachelung der Proglottidenkette.

Dieses über Bestachelung an neuen Cestodenarten. Doch auch in der Litteratur findet sich eine diesbezügliche, vergessene Angabe. Ich erinnere daran, was Wagener (l. c. p. 4 u. 5) über „Härchen“ und Stacheln sagt: „Diese Härchen bewegen sich nicht .... Ihre Größe ist sehr verschieden; ihre Form nähert sich bald der der Stacheln, wie am Kopfe des *Tetrabothrium*, des *Carcharias Rondeletti*, an den Gliedrändern und dem Kopfe von *Dibothrium crassiceps*, am Penis von *Taenia macrorhyncha*, *multistriata* und manchen Tetrarhynchenköpfen.“ Man sieht, daß Wagener unter „Härchen“ sehr Verschiedenes zusammenfaßte, auch ausgesprochene Hakenbildungen, wenn er die Penisstacheln hier mitzählt. Und dennoch findet auch er bei einem Cestoden richtige Haken an der Kette: er sieht sie bei seinem *Tetrabothrium* aus *Carcharias Rondeletti* schon bei 16-facher Vergrößerung deutlich und schreibt ausdrücklich in der Tafelerklärung (l. c.) zu Fig. 266: „Verschiedene Formen eines *Tetrabothrium* aus dem Dickdarme eines *Carcharias Rondeletti*. Kopf von oben. Der Leib ist ganz mit Stacheln besetzt, der Kopf mit kurzen, starren Haaren.“ Wenn schon Wagener also den Unterschied macht, dann müssen die Stacheln der Kette schon gar nicht „Härchen“-ähnlich gewesen sein, ganz wie bei meinem Tetrabothriiden, der mit Wagener's Fig. 267 gleiche Kopfform hat, nur daß Kopf und Hals unbewehrt sind[1]).

---

1) Nach Wagener (s. Tafelerklärung) sind Figg. 266—270 Abbildungen des-

Da wäre also schon eine ganze Reihe von Cestoden, alles aus Selachiern, beisammen, die bestachelte Proglottiden haben.

Fast das gesamte Innenfeld der jüngeren Proglottiden meiner *Wageneria*, die ich *Wag. impudens* nenne, ist von zahlreichen Hoden eingenommen, soweit es nicht von anderen Genitalorganen ausgefüllt wird. Nur das äußerste Vorderende ist von Genitalorganen frei, weist aber, wie scheinbar bei allen Wagenerien, keine besondere Ausbildung zum Haftlappen auf. Die 0,08—0,1 mm großen rundlichen Hoden liegen (dorsoventral) in einer Schicht; am Vorder- und Hinterende bilden sie mehrere unregelmäßige Längsreihen (Fig. 1), bis zu fünf; nur die Randreihen sind gut ausgeprägt. Die Hoden flachen sich, wie bei *Wag. porrecta*, vielfach gegenseitig ab. Solange der Uterus noch wenig ausgebildet ist, ziehen die Randreihen zu seinen beiden Seiten vorüber, nur am Genitalporus und am Ovarium auf kurze Strecke unterbrochen. Sie reichen also durch die ganze Länge der Proglottis.

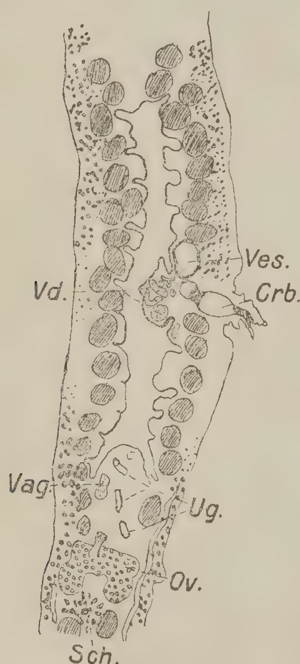



Fig. A 3. Mittleres Drittel eines Flächenschnittes. Halbreife Proglottis. Buchstabenbezeichnung wie in Fig. 1. *Ug.* Uteringang.

Das Ovarium, ein zweiflügeliges Organ ohne Lappung von 0,16 : 0,2 mm Größe, liegt am Anfang des letzten Körperviertels. Dahinter, und noch von den Hinterenden der Flügel umfaßt, liegt die rundliche Schalendrüse, etwas dorsalwärts verschoben. Die Dotterstöcke verhalten sich genau ebenso, wie es Lühe für *Wag. porrecta* angiebt. Der Ovidukt geht ventral ab, biegt dann seitlich nach dem poralen Rande und vereinigt sich noch vor der Schalendrüse mit der Vagina, deren breites Lumen sich zum Schluß bedeutend verengt. Die Vagina ist etwas stärker geschlängelt, als Fig. 1 zeigt. Die Dottergänge treten beiderseits zwischen dem Ovarium und den vordersten Hoden des Hinterfeldes durch.

Ganz anders als bei *Wag. porrecta* verhält sich hier der Uterus. Dort sehen wir (Lühe l. c. Fig. 1 und 2) einen sehr langen Uteringang von beträchtlicher Breite geschlängelt nach vorne ziehen, den Genitalporus passieren und erst vor demselben in den Uterus münden, der, ein relativ schmales Rohr, bis ins vorderste Körperviertel hineinreicht. Hier hingegen ist der Uteringang ganz kurz: dorsal am Ovarium vorüberziehend, bildet er vor demselben auf engem Raum (Fig. 3) einige wenige Windungen; in der Mittellinie mündet er dann in den Uterus, der ganz nahe an das Ovarium heranreicht. Der Uterus selbst bildet in jüngeren freien Proglottiden einen fast geradlinig begrenzten Kanal (Fig. 1), dessen größeres Ende hinter dem Genitalporus liegt. Später wächst er nach vorn, so

---

selben Cestoden. Ich bezweifele das durchaus. Fig. 267 hat die gleichen flachen, nach vorn gerichteten Saugnäpfe, wie mein Cestode, und diese können sich gar nicht „verlängern", wie es Wagener in Figg. 269 und 270 zeichnet. Bei Bothrien hingegen, wie in Fig. 266, könnte es der Fall sein.

daß beide Enden etwa gleich lang sind. Zugleich bildet er seitliche Aussackungen (Fig. 3), die zum Teil zwischen die anlagernden Hoden dringen. Zwei zipfelförmige Fortsätze wachsen auch nach hinten zu, so daß die Einmündung des Uteringanges in die Mitte der Einbuchtung zu liegen kommt. Bei weiterer Füllung des Uterus verstreichen dann die Ausbuchtungen, der Uterus erweitert sich gleichmäßig, und in reifen Proglottiden nimmt er als breiter Sack den ganzen Mittelteil der Proglottis ein, aus welchem er auch die Hoden verdrängt hat. Da er auch dorsoventral sich ausdehnt, erscheint die Mitte der Proglottis alsdann verdickt.

Das Vas deferens bildet in dem ausgesparten Raume zwischen Uterus und Genitalporus einen Knäuel von Windungen (Fig. 3) und schließlich eine recht geräumige Vesicula. Der Cirrhusbeutel ist schwach muskulös, der Cirrhus hingegen enorm lang, wenn auch dünn; er ist wenig kürzer als die Proglottis breit ist. Der Genitalsinus ist langgestreckt, aber flach und liegt dicht hinter der Körpermitte.

Wenn sich auch bei *Wag. porrecta* Lühe der Uterus bei weiterer Füllung breiter ausdehnen mag, so bleibt doch zwischen dieser Species und meiner *Wageneria* ein prinzipieller Unterschied im Verhalten des Uteringanges und der Längsausdehnung des Uterus zum Genitalporus. Da zudem bei *Wag. impudens* der Genitalporus mehr nach vorne liegt und der verschiedenen Beschaffenheit der Cuticula ein Wert als Speciescharakter immerhin zukommt, so glaube ich, daß trotz aller Aehnlichkeit *Wag. impudens* eine dritte gute Art bildet.

Nicht unerwähnt lassen will ich einen Fund, den ich in demselben Glase machte, wenn ich ihn auch nicht sicher mit *Wag. impudens* in Zusammenhang bringen kann. Unter den freien, typischen Proglottiden fand ich nämlich ein kleines Ende einer Kette, 3 Proglottiden in losem Zusammenhange. Mehr, als in Fig. 4 gezeichnet, war nicht am Totalpräparat zu sehen und auch eine Schnittserie durch die oberste der drei zeigte wegen der Maceration nicht viel mehr. Die Proglottiden messen 0,53 : 0,37 mm. Fast das ganze Mittelfeld ist von 0,05 mm großen Hoden eingenommen. Am Hinterende gehen sie noch zu beiden Seiten des Ovariums herab, das als zweiflügeliges Organ am Hinterrande liegt. Die vierflügelige Figur im Totalpräparat besteht aus den zwei seitlichen Ovarialflügeln, der dahinter gelegenen Schalendrüse und wohl der vorgelagerten Uterusanlage, welche im Schnitt als Haufen stark färbbarer Zellkerne mit medianer Höhlung erscheint. Vagina und Vas deferens, beide erst angelegt und ohne Oeffnung nach außen, ziehen nahe am Hinterende zum Proglottidenrand.

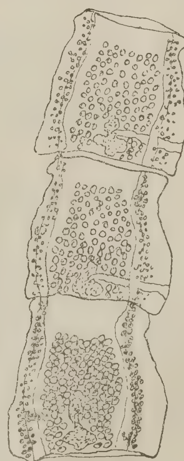


Fig. A 4. Nach einem Totalpräparat.

Ich habe große Bedenken, diese Glieder mit *Wag. impudens* in Zusammenhang zu bringen. Die Hoden zwar könnten, bei späterem Wachsen des Gliedes nach hinten zu, das Ovarium, wie dort, ganz umfassen; bedenklich aber ist die Lage des Genitalporus fast auf der Höhe des Ovariums. Andererseits fanden sich aber an den Proglottiden noch einige Stacheln, welche ganz denen der *Wag. impudens* glichen. Allerdings hat — siehe weiter unten — auch ein ganz anderer Selachiercestode die gleichen

Haken und da, wie gesagt, Bestachelung an sich bei Selachiercestoden nichts allzu Seltenes ist, so ist das Vorhandensein der gleichen Stacheln an den 3 Gliedern für mich kein Beweis ihrer Zusammengehörigkeit mit *Wag. aculeata.*

### ***Merocestus foliiformis*** (Crep.).

Ich komme zu der zweiten Art bestachelter, freilebender Proglottiden (dem *Dist. foliiforme* Creplin's). Sie ähneln zum Teil täuschend einem *Distomum.* Breit, blattförmig in der Mitte, spitzen sie sich am Hinterende meist zu, während das Vorderende, das eine große Beweglichkeit zu besitzen scheint, die verschiedensten Formen annimmt bis zum langen, schmalen Fortsatz. In dies bewegliche Vorderende reichen auch die Genitalien nicht bis zum Ende hinein, ganz wie bei den Wagenerien; ein Haftlappen wird aber nicht besonders ausgebildet. Einige Proglottiden hingegen waren kleiner und stark kontrahiert (oder noch nicht so in die Länge gewachsen?), so daß die Länge zwischen 1,5 und 2,4 mm, die Breite von 0,6—0,75 mm schwankt. An der meist macerierten Cuticula finden sich an einzelnen Stellen Stacheln von der oben bei *Wag. impudens* abgebildeten Form und derselben Größe.



Fig. B 1. Drei verschiedene Formen des *Merocestus foliiformis.* In der ersten Proglottis ist der Cirrhus vorgestülpt und die Uterusöffnung zu sehen.

Fig. 2 giebt einen etwa median verlaufenen Flächenschnitt wieder. Wenig hinter der Mitte des Seitenrandes münden Cirrhus und Vagina und bis zu dieser Höhe reichen die das Vorderfeld einnehmenden Hoden. Sie liegen nicht so dicht gedrängt wie bei *Wag. impudens*, dafür aber unregelmäßig verteilt in 2 Schichten, dorsal und ventral. Im Centrum der Proglottis tritt das stark gewundene Vas deferens auf und mündet schließlich in eine mäßig große Vesicula, die das Hinterende des kräftigen Cirrhusbeutels einnimmt. Der Cirrhus ist, wenn vorgestülpt, von sehr bedeutender Länge und im Gegensatz zu den Wagenerien auch von beträchtlichem Durchmesser, 0,53 : 0,075 mm.

Die hintere Hälfte der Proglottis ist von den weiblichen Genitalorganen eingenommen. Etwa um seine eigene Länge vom Genitalporus entfernt liegt hinten das kompakte Ovarium, dessen Zweiflügeligkeit nicht zum Ausdruck kommt; die Ränder sind unregelmäßig gebuchtet und gelappt. Der Ovidukt geht ventral ab und zieht nach der mehr dorsal und hinten gelegenen Schalendrüse, vor welcher er die Vagina aufnimmt. Bevor ich auf deren Verlauf eingehe, muß ich einige Worte über den Uterus vorausschicken.

Dieser erscheint (Fig. 2) als wenig geräumige Höhlung dicht vor dem Ovarium und reicht, da er ihm an Länge etwa gleichkommt, bis an die Vesicula seminalis. Fig. 3 zeigt nun, daß er an den vorliegenden Proglottiden nicht geschlossen ist. Er öffnet sich wenig hinter dem Genitalporus median und flächenständig mit langgestreckter Oeffnung mit gefälteltem Rande (Fig. 1); da die Ränder etwas gewulstet sind,

kann das Ganze in der Aufsicht wohl einen Saugnapf vortäuschen. An seinem Hinterende nimmt er den dorsal heranziehenden Uteringang auf. Es fiel mir auf, daß ich vielfach gar keine, sonst auch nur wenige Eier im Uterus fand (0,036 : 0,027 mm groß), während die Proglottiden voll entwickelt zu sein scheinen. Ich glaube daher, daß es sich hier nicht um eine wirkliche, präformierte Uterusöffnung handelt — dazu ist sie auch zu weit. Es wird sich wohl hier, wie es vielfach bei Selachiercestoden beobachtet wurde, um eine Uterusruptur beim Konservieren handeln. Dafür sprechen auch die gebuchteten Ränder der Oeffnung und ihre Wulstung, die durch die Kontraktion bei der Zerreißung entstanden sein kann.

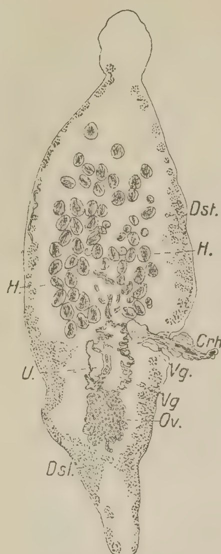


Fig. B 2.



Fig. B 3.

Fig. 2. Flächenschnitt durch eine Proglottis von *Merocestus foliiformis*. Buchstabenbezeichnung wie oben.
Fig. 3. Mittelster Teil eines Sagittalschnittes.

Die Höhlung des Uterus bildet kein kontinuierliches Lumen (Fig. 2 und 3). Sie wird von mehreren Parenchymbalken durchsetzt, die sie zum Teil der ganzen Länge nach durchziehen. In einem dieser Balken nun zieht die Vagina quer durch den Uterus durch — so kommt das Bild in Fig. 2 zustande. Dieses seltsame Verhalten ist wohl so zu erklären, daß die Vagina anfangs dicht an der Uterusanlage vorüberzog und der Uterus dann im weiteren Wachsen einen Divertikel um sie herumsandte, so daß sie nunmehr mit dem umgebenden Parenchym in die Mitte seines Lumens verlagert erscheint.

Die Dotterstöcke sind hauptsächlich in der hinteren Hälfte entwickelt, greifen aber auch nach vorn, und zwar weiter als das Hodenfeld, über. Vorn sind sie streng auf die Seitenränder beschränkt, so daß sie auf medianen Sagittalschnitten fehlen. Hinter dem Genitalporus hingegen treten sie zu einer ventralen und einer dorsalen Platte zusammen, die an den Seitenrändern ineinander übergehen; hinter dem Ovarium, wo sich die Proglottis stark verschmälert, können die Dotterstöcke auf diese Weise das Mittelfeld vollkommen füllen. Ueberall bestehen sie aus scharf gesonderten Follikeln, die im vorderen Teile einzeln sitzen, durch Längsgänge miteinander verbunden. Die Dotterzellen sind sehr groß, größer sogar als die Ovarialeier.

### *Prosobothrium armigerum* n. gen. n. sp.

Von dem oben erwähnten Tetrabothriiden mit bestachelter Proglottidenkette gebe ich hier nur eine kurze Charakterisierung als Vornotiz zu einer ausführlichen Beschreibung.

Das Glas XXV φ der Greifswalder Sammlung enthält eine Anzahl von Cestoden aus dem Magen von *Squalus acanthias*, Atlantischer Ocean, sowie eine Anzahl meist zu zweien und dreien zusammenhängender

isolierter Proglottiden. Das längste Exemplar mißt 21 mm. Der Scolex (0,53 : 0,3 mm) ähnelt vollkommen Wagener's Abbildung 267 (l. c.). Die Saugnäpfe, von 0,25 mm Durchmesser, sind sehr flach (Lumentiefe 0,012 mm) und mehr nach vorn als seitlich gerichtet. Das Collum beginnt mit 0,26 mm Breite, die Kette nimmt aber rasch bis 1,9 mm zu und behält dann diese Breite bei; erst die letzten Glieder strecken sich mehr, die Breite nimmt dann ab, 1,3 : 1,0 mm; fast dieselben Maße haben auch die abgestoßenen Glieder, die bohnenförmig und wie die hohle Hand kontrahiert sind. Scolex und Anfangsteil des Halses sind unbewehrt — der Hauptunterschied von Wagener's Fig. 267. Dann setzt unmittelbar eine überaus starke Bestachelung ein, so daß die Cuticula in kleinen Fetzen gleichsam nur die engen Zwischenräume ausfüllt; die Haken sind am Collum zum Teil massiger, weiter hinten schlanker und 0,036 mm lang, scharf zugespitzt, mehr oder weniger nach hinten gebogen und mit 2 Wurzeln, einer langen hinteren und einer kurzen, plumpen vorderen, versehen. Sie sitzen mit der langen Wurzel direkt der Basalmembran der Cuticula auf (Näheres in der ausführlichen Beschreibung) und ragen doch mit der Spitze weit über die Cuticulaoberfläche hinaus.

Die Genitalporen alternieren unregelmäßig und liegen wenig hinter der Mitte des Gliedrandes. Der Cirrhusbeutel ist überaus groß, 0,8 mm lang bei 0,5 mm Breite, der Cirrhus ebenso lang in seinem vorstülpbaren Teile und mit kräftigen, gebogenen Haken bewaffnet. Im Hinterende des Beutels liegt eine kleine Vesicula; dicht hinter dem Cirrhusbeutel befinden sich die Windungen des Vas deferens. Die zahlreichen Hoden füllen meist den vorderen Teil des Mittelfeldes, doch drängen sie auch in alle Zwischenräume zwischen den anderen Organen.

Fast den ganzen Hinterrand der Proglottis nimmt das aus langen Schläuchen bestehende, zweiflügelige Ovarium ein, hinter dessen Mittelbrücke die Schalendrüse liegt. Schluckapparat vorhanden. Vor der Schalendrüse nimmt der Ovidukt den kurzen Ausführungsgang des zum Receptaculum erweiterten Endteils der Vagina auf, die dicht hinter dem Cirrhusbeutel ausmündet. Das Receptaculum ist innen mit langen Härchen dicht ausgekleidet. Der kurze Uteringang mündet in den sich median in der Längsachse als sehr dickwandiger, gebuchteter Kanal anlegenden Uterus ein; der Uterus war auch in den in der Entwickelung am weitesten fortgeschrittenen Proglottiden erst wenig ausgebildet und nicht gefüllt. Die Dotterstöcke sind auf die Außenfelder beschränkt und bilden eine dorsale und eine ventrale Platte, die an den Seitenrändern verdickt sind und kommunizieren. Die Dottergänge ziehen beiderseits hinter dem Ovarium längs des hinteren Proglottidenrandes zur Schalendrüse.

Der Gesamthabitus der Genitalorgane erinnert also sehr an *Calliobothrium*. Die losgelösten Proglottiden unterscheiden sich nur durch etwas größere Längsstreckung von den letzten Gliedern der Ketten; ihre breit abgerundeten Enden zeigen keine besondere Ausbildung, was vielleicht auf ihre geringe Reife zurückzuführen ist, da ja auch einige Proglottiden des *Merocestus foliiformis* noch nicht die typische Form zeigten. Eine ausführliche Beschreibung der Species folgt an anderer Stelle.

*Nachdruck verboten.*

# Untersuchungen über die Wirksamkeit des Milzbrandserums des Hundes als Schutz- und Heilmittel.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Cagliari.]

Von Prof. **Francesco Sanfelice.**

Die bedeutendsten Untersuchungen auf dem Felde der Milzbrandserotherapie veröffentlichte Sclavo[1]), der zuerst günstige Versuchsresultate mit dem Serum von Natur für den Milzbrand empfänglicher, aber gegen diese Krankheit aktiv immunisierter Tiere erreicht und dieselben bereits 1895 dem italienischen Kongreß für innere Medizin in Rom vorgelegt hatte.

Sclavo nahm seine ersten Versuche an Kaninchen vor und verwendete dazu das Blutserum eines Hammels und eines Lammes, die er gegen sehr hohe Dosen virulenter Milzbrandkulturen refraktär gemacht hatte. Von diesen beiden Sera erwies sich das des Hammels bedeutend wirksamer, indem es Sclavo gelang, mit dessen Hülfe zwei Kaninchen zu retten, die 12 Stunden vorher mit einer sporenhaltigen Milzbrandkultur infiziert worden waren; ein anderes Kaninchen, an welchem er denselben Versuch 24 Stunden nach der Injektion vorgenommen hatte, starb nach 8 Tagen, während Kontrolltiere der gleichen Kulturdosis in annähernd 48 Stunden erlagen.

Diese Resultate wurden in der Folge von Marchoux vollkommen bestätigt[2]), der sich eines Milzbrandbacillus von annähernd gleicher Virulenz, wie Sclavo, bediente und zwei Kaninchen, denen er 24 Stunden nach der Infektion das Serum injizierte, am Leben erhielt. Bei späteren Versuchen, welche Sclavo mit Kulturen von größerer Wirksamkeit als den zuerst verwendeten vornahm, beschränkte sich jedoch die Wirkung des besten bis dahin bereiteten Serums darauf, den Tod der gleichzeitig mit der Kultur und dem Serum injizierten Kaninchen um 6—7 Tage hinauszuschieben; und es bildet eine Ausnahme, daß von 15 Tieren eines am Leben blieb.

Trotz dem beständigen Fehlschlagen der Experimente, die Marchoux auch an Meerschweinchen erproben wollte, nahm Sclavo diese Versuche wieder auf und erzielte, selbst bei Anwendung relativ geringer Serumdosen, günstige Resultate; doch nur unter der Bedingung, daß der subkutan oder ins Peritoneum injizierte Keim so abgeschwächt war, daß er für Kaninchen keine tödliche Wirkung hatte (I Vaccin Pasteur's) und in Dosen angewendet wurde, welchen die Kontrolltiere (Meerschweinchen) nicht vor dem 3. Tage erliegen.

Sobernheim[3]) hatte später mit seinen Experimenten an Kaninchen, die er mit Serum und Injektion eines Keimes von äußerst starker Viru-

---

1) Sclavo, Sulla preparazione del siero anticarbonchioso. (Rivista d'Igiene e Sanità pubblica. 1896.) — La Sieroterapia del carbonchio ematico. (Rivista d'Igiene e Sanità pubblica. 1898.) — Nuove ricerche sperimentali sul potere curativo del siero anticarbonchioso. (Rivista d'Igiene e Sanità pubblica. 1901.)

2) Marchoux, Serum anticharbonneux. (Annales de l'Institut Pasteur 1895).

3) Sobernheim, Experimentelle Untersuchungen zur Frage der aktiven und passiven Milzbrandimmunität. (Zeitschr. f. Hyg. 1895.)

lenz behandelte, weniger Glück als Sclavo, und schließt seine Arbeit mit der Behauptung, das Milzbrandserum könne die Kaninchen nicht vom Tode retten, sondern höchstens den Ablauf der Infektion um einige Tage hinausziehen.

Auf andere Untersuchungen hin berichtete Sobernheim[1]) 1897, daß das Serum, subkutan injiziert, in Schafen der Milzbrandinfektion Einhalt zu thun vermag. 4 Schafe wurden vor der Injektion der Milzbrandkultur mit Serum behandelt, und eines derselben erhielt während einer Woche täglich wiederholte Einspritzungen von 10 ccm Milzbrandserum. Einem 5. Schafe dagegen applizierte man dasselbe erst eine Stunde nach der Milzbrandinfektion. 2 Kontrolltieren führte man nur 100—150 ccm Serum von einem nicht immunisierten Schafe ein, und da der Tod dieser Tiere nach 30—40 Stunden eintrat, blieb die Möglichkeit ausgeschlossen, daß die mit dem Milzbrandserum erzielten Resultate, unabhängig vom Immunisierungsprozeß, schon von Natur im Serum vorhandenen Antikörpern zu verdanken sei.

Inzwischen setzte Sclavo seine Studien fort und teilte der Accademia medica von Turin in der Sitzung vom 25. Februar 1898 die mit dem Milzbrandserum erzielte Heilung von 7 mit Karbunkelkrankheit behafteten Personen mit; zu gleicher Zeit hob er die wichtige Thatsache hervor, daß die endovenöse Einführung relativ geringer Quantitäten (1—2 ccm) eines vorzüglichen Milzbrandserums Kaninchen in der Mehrzahl selbst gegen starke Dosen hochvirulenter Milzbrandkulturen schützt.

Sclavo stellte auch weitere Versuche mit Schafen an, um in Erfahrung zu bringen, nach wieviel Stunden auf die stattgefundene Milzbrandimpfung eine Rettung mittelst der endovenösen Einführung von Milzbrandserum möglich sei, und verwendete dazu das Serum eines Hammels, der seit mehr als Jahresfrist in immunisierender Behandlung stand. Die 10 der Jugularinjektion des Serums unterworfenen Schafe hatten ein Gewicht von 17,25 Kilo. Als Kontrolltiere dienten 4 weitere Schafe. Sämtliche 14 Tiere erhielten die Milzbrandimpfung im subkutanen Bindegewebe.

Zwei Schafen wurden nach dieser Injektion unverzüglich 5—10 ccm Serum in die Venen eingespritzt.

Weitere 4 Paare behandelte Sclavo nach der 12. bis zur 30. Stunde, in Zwischenräumen von je 6 Stunden mit Jugularinjektionen von 10—20—30—40—50 ccm Serum.

30 Stunden nach der Impfung waren die beiden Kontrolltiere tot. Zu den Ueberlebenden gehören die zwei, welche unmittelbar nach der Milzbrandeinspritzung mit Serum injiziert worden waren, eines der nach 12 Stunden, und endlich die nach 24 Stunden injizierten Schafe; im Blute der letzteren zeigten sich bereits die Bacillen.

Die Bedeutung dieser Erfolge Sclavo's wird Keinem entgehen und darf, auf diese Untersuchungen gestützt, die Versicherung abgegeben werden, daß die Möglichkeit der Milzbrandheilung bei großen Tieren nur noch eine Frage der Zeit sei.

Schließlich ist noch zu erwähnen, daß Sclavo auch mit der Einführung des Milzbrandserums in die Heilmethoden der Karbunkelkrankheit schöne Erfolge zu verzeichnen hat. In der medizinischen Klinik in

---

1) Sobernheim, Untersuchungen über die Wirksamkeit des Milzbrandserums. (Berliner klin. Wochenschr. 1897.)

Florenz gelang durch die Anwendung des Serums die Heilung einer in weit vorgeschrittenem Stadium befindlichen Kranken, in deren Blut der positive Nachweis der spezifischen Bacillen geleistet war.

*
* *

Bei meinem Studium der Bakteriolyse des Milzbrandbacillus im Organismus und zwar speziell im Organismus von Hunden, die ich durch Inokulation anfänglich abgeschwächter, dann virulenter Kulturen immunisiert hatte, und in dem präventiv mit dem Hundeserum, hierauf mit virulenten Milzbrandkulturen geimpfter Kaninchen, überraschte mich die bemerkenswerte immunisierende und heilkräftige Wirksamkeit des Milzbrandserums des Hundes. Ich nahm daher eine große Serie von Untersuchungen vor, deren Mitteilung ich für angemessen halte und daher zum Gegenstand der vorliegenden Arbeit mache.

Die in jüngster Zeit erschienenen Abhandlungen über Bakteriologie und infektiöse Krankheiten betrachten den Hund als refraktär gegen Milzbrandinfektion. Einige Verff. deuten höchstens die Empfänglichkeit sehr junger Hunde für diese Krankheit an.

Nun habe ich an einer schönen Anzahl erwachsener Hunde Impfungen im subkutanen Bindegewebe vorgenommen und gewann die Ueberzeugung, daß es sowohl Tiere giebt, die der Injektion geringer Dosen von Kulturen widerstehen, als solche, die mit dem Befund einer typischen Septikämie zu Grunde gehen; sowie daß von erwachsenen Hunden auch der subkutanen Impfung von beträchtlichen Mengen virulenter Kulturen die einen widerstehen und die anderen erliegen.

Zu allen diesen Impfversuchen an erwachsenen Hunden dienten mir Agarstrichkulturen aus dem Herzblut eines Kaninchens, das an subkutaner Inokulation eines mit Milzbrandsporen getränkten Seidenfadens gestorben war. Seit mehreren Jahren konserviere ich im Laboratorium unter Lichtabschluß solche Seidenfäden, die, in das subkutane Bindegewebe von Kaninchen eingeführt, dieselben — groß und klein — stets in 72 Stunden töten.

Die Dauer der Infektionsperiode ist bei den an subkutaner Impfung gestorbenen Hunden eine verschiedene. Bei den einen tritt der Tod am 3., bei anderen am 4., in seltenen Fällen am 6., 7., 8. Tage ein.

Die Mortalitätsziffer betrug bei den erwachsenen Hunden, die ich der subkutanen Inokulation kleiner und großer Dosen virulenter Kulturen unterworfen hatte, annähernd 66 Proz.

Der Sektionsbefund an Milzbrand gestorbener Hunde ergiebt im subkutanen Bindegewebe gelatinöses, hie und da blutiges Oedem; die Nieren zeigen, besonders in der Rindensubstanz verteilt, hämorrhagische punktförmige Flecken; die Milz ist beträchtlich vergrößert, mit lockerer Pulpa; die Leber angeschwollen und hyperämisch; die Mesenterium-Lymphdrüsen hämorrhagisch; die Lungen erscheinen in normalem Zustand.

Die mikroskopische Untersuchung weist in sämtlichen Organen sowie im Herzblut die Gegenwart zahlreicher Bacillen nach, die sich in nichts von den Bacillenformen unterscheiden, welchen man bei den gewöhnlichen Versuchstieren begegnet.

Die Sektion der Organe, besonders der Leber, zeigt kleine nekrobiotische Herde und sowohl an den hepatischen Zellen als an den Leukocyten eingetretene Karyolyse. Im Leukocytenzellleib der Lymphdrüsen erscheinen Chromatinkugeln.

Alle Milzbrandbacillen befinden sich in freiem Zustand, keine im Inneren der Leukocyten.

In Anbetracht der Empfänglichkeit der meisten Hunde für die Einführung virulenter Milzbrandkulturen schien das Impfen mit derartigen Kulturen zum Beginn der immunisierenden Behandlung nicht rätlich. Ich zog daher vor, zuerst abgeschwächte Kulturen anzuwenden und erst auf diese die Inokulation virulenter folgen zu lassen. Zum Abschwächen der virulenten Kulturen nahm ich von einer Agarstrichkultur Impfungen auf Fleischbrühe vor (10 ccm) und hielt die Proberöhrchen einige Tage lang im Thermostaten bei einer Temperatur von 45—50° C. Solche 5—6—7 Tage bei der genannten Temperatur gezüchtete Bouillonkulturen, in das subkutane Bindegewebe der Hunde eingespritzt, wurden von denselben sehr gut vertragen und darf auf mehrmalige Injektionen dieser abgeschwächten Kulturen, ohne die mindeste Gefahr für die Tiere, zur Inokulation hochvirulenter Kulturen übergegangen werden.

Ich lasse hier das Protokoll meiner Milzbrandimmunisierungsversuche an Hunde folgen.

Hund I. Körpergewicht 12,600 kg.

28. Dez. 01. 1. subkutane Injektion einer abgeschwächten Kultur. Schwache lokale Reaktion.
30. Dez. 01. 2. Inokulation idem.
1. Jan. 02. 3. Inokulation idem. Keine lokale Reaktion. Temperatur im Rectum normal.
3. Jan. 02. 4. Inokulation idem.
5. Jan. 02. 5. Inokulation idem. Keine lokale Reaktion. Temperatur im Rectum normal.
7. Jan. 02. 6. Inokulation idem.
8. Jan. 02. 7. Inokulation idem.
10. Jan. 02. 8. Inokulation mit zwei abgeschwächten Kulturen. Keine lokale Reaktion. Temperatur im Rectum normal.
12. Jan. 02. 9. Inokulation einer virulenten, 24 Stunden im Thermostaten erwärmten Bouillonkultur. Leichte lokale Anschwellung. Temperatur im Rectum 38,6.
14. Jan. 02. 10. Inokulation idem.
16. Jan. 02. 11. Inokulation idem.
18. Jan. 02. 12. Inokulation idem.
20. Jan. 02. 13. Inokulation idem.
22. Jan. 02. 14. Inokulation idem. Die Aufschwellungen an den Stellen der letzten Inokulationen sind unbedeutender und zu rascherem Verschwinden geneigt. Rectumtemperatur 38,4.
24. Jan. 02. 15. Inokulation idem.
26. Jan. 02. 16. Inokulation idem.
28. Jan. 02. 17. Inokulation idem.
29. Jan. 02. 1. Jugularaderlaß.

Der Hund empfing im ganzen 8 Inokulationen abgeschwächter Milzbrandkulturen, zusammen ungefähr 90 ccm Flüssigkeit und 9 Inokulationen = ca. 90 ccm virulenter Kulturen. Das einen Monat nach der 1. Injektion abgezapfte Serum besitzt präventive und kurative Wirksamkeit.

4. Febr. 02. 18. Inokulation einer virulenten Bouillonkultur.
7. Febr. 02. 19. Inokulation idem.
10. Febr. 02. 20. Inokulation idem.
14. Febr. 02. 21. Inokulation idem.
16. Febr. 02. 22. Inokulation idem.
18. Febr. 02. 2. Jugularaderlaß. Das Blutserum hat die gleiche präventive und kurative Wirksamkeit.
24. Febr. 02. 23. Inokulation idem.
26. Febr. 02. 24. Inokulation idem.
3. März 02. 25. Inokulation idem.
6. März 02. 26. Inokulation idem.
10. März 02. 27. Inokulation idem.
14. März 02. 28. Inokulation idem.

16. März 02. 3. Jugularaderlaß. Das Blutserum hat die gleiche präventive und kurative Wirksamkeit. Temperatur im Rectum 38,4.

28. April 02. 4. Jugularaderlaß. Das Serum besitzt die gleiche präventive und kurative Wirksamkeit.

Hund II. Körpergewicht 9,400 kg.

9. Febr. 02. 1. subkutane Inokulation einer abgeschwächten Kultur.
11. Febr. 02. 2. Inokulation idem. Unbedeutende Lokalreaktion. Rectumtemperatur 38.
14. Febr. 02. 3. Inokulation idem.
16. Febr. 02. 4. Inokulation idem.
18. Febr. 02. 5. Inokulation idem.
20. Febr. 02. 6. Inokulation idem.
23. Febr. 02. 7. Inokulation idem.
25. Febr. 02. 8. Inokulation einer virulenten, 24 Stunden lang im Thermostaten auf 37° C gehaltenen Bouillonkultur.
26. Febr. 02. 9. Inokulation idem. Lokale Anschwellung. Rectumtemperatur 38,2.
27. Febr. 02. 10. Inokulation idem.
28. Febr. 02. 11. Inokulation idem.
1. Jugularaderlaß. Der Hund erhielt 7 Injektionen abgeschwächter Milzbrandkulturen = ca. 70 ccm Flüssigkeit und 4 Injektionen virulenter Kulturen = ca. 40 ccm Flüssigkeit. Das 20 Tage nach der 1. Inokulation abgezapfte Serum hat immunisierende, aber keine kurative Wirksamkeit.
3. März 02. 12. Inokulation idem.
6. März 02. 13. Inokulation idem.
10. März 02. 14. Inokulation idem.
15. März 02. 15. Inokulation idem. Verminderte Reaktion an der Impfstelle. Rectumtemperatur 38.
20. März 02. 16. Inokulation idem.
25. März 02. 17. Inokulation idem.
28. März 02. 18. Inokulation idem.
6. April 02. 19. Inokulation idem. 2. Jugularaderlaß. Der Hund erhielt 7 Injektionen abgeschwächter Kulturen = ca. 70 ccm und 12 Injektionen virulenter Kulturen = ca. 120 ccm Flüssigkeit. Das 55 Tage nach der 1. Inokulation abgezapfte Serum wirkt präventiv und heilkräftig.
10. April 02. 20. Inokulation idem.
15. April 02. 21. Inokulation idem.
20. April 02. 22. Inokulation idem.
27. April 02. 23. Inokulation idem.
1. Mai 02. 3. Jugularaderlaß. Das Serum besitzt präventive und kurative Wirkungskraft.

Hund III. Körpergewicht 10,300 kg.

18. Febr. 02. 1. subkutane Inokulation von 2 abgeschwächten Kulturen. Temperatur im Rectum vor der Impfung 39.
20. Febr. 02. 2. Inokulation von 4 abgeschwächten Milzbrandkulturen. Geringfügige Reaktion an der Impfstelle. Rectumtemperatur 39.
23. Febr. 02. 3. Inokulation von 2 Kulturen idem.
26. Febr. 02. 4. Inokulation von 1 Kultur idem.
3. März 02. 5. Inokulation einer virulenten, 24 Stunden lang auf 37° C gehaltenen Kultur.
6. März 02. 6. Inokulation idem.
8. März 02. Rectumtemperatur 39,8. Anschwellen der Impfstelle. 1. Jugularaderlaß. Der Hund hatte 9 abgeschwächte Milzbrandkulturen des Gesamtvolumens von ca. 90 ccm Flüssigkeit und 2 virulente Kulturen = ca. 20 ccm erhalten. Das 18 Tage nach der 1. Impfung abgezapfte Serum hat immunisierende, doch keine kurative Wirksamkeit.
18. April 02. 7. Inokulation einer virulenten Kultur.
20. April 02. 8. Inokulation idem. An der letzten Impfstelle zeigt sich eine leichte Anschwellung. Rectumtemperatur 39,2.
22. April 02. 9. Inokulation idem. Rectumtemperatur 39.
24. April 02. 10. Inokulation von 2 virulenten Milzbrandkulturen.
1. Mai 02. 2. Jugularaderlaß. Das Serum wirkt immunisierend und kurativ.

Hund IV. Körpergewicht 13,200 kg.

23. Febr. 02. 1. subkutane Inokulation einer abgeschwächten Milzbrandkultur.
26. Febr. 02. 2. Inokulation idem. Keine lokale Reaktion. Rectumtemperatur 38,5.
2. März 02. 3. Inokulation einer virulenten Milzbrandkultur.
6. März 02. 4. Inokulation idem.
8. März 02. Aufschwellung an der Impfstelle. Rectumtemperatur 38,6. 1. Jugularaderlaß. Der Hund hat 2 Injektionen abgeschwächter Kulturen, zusammen 20 ccm Flüssigkeit, und 2 Injektionen virulenter Kulturen von dem gleichen Volumen erhalten. Das 13 Tage nach der 1. Impfung abgezapfte Serum zeigt noch keine immunisierende Wirksamkeit.
10. März 02. 5. Inokulation einer virulenten Milzbrandkultur.
11. März 02. 6. Inokulation idem.
13. März 02. 7. Inokulation idem.
15. März 02. 8. Inokulation idem.
17. März 02. 9. Inokulation idem.
19. März 02. 10. Inokulation idem.
22. März 02. 2. Jugularaderlaß. Das Serum besitzt Immunisier- und Heilkraft

Hund V. Körpergewicht 14,700 kg.

30. April 02. 1. subkutane Inokulation mit 2 abgeschwächten Milzbrandkulturen.
2. Mai 02. 2. Inokulation idem.
4. Mai 02. 3. Inokulation einer virulenten Milzbrandkultur.
6. Mai 02. 4. Inokulation idem. Beträchtliche Reaktion an der Impfstelle. Rectumtemperatur 39,2.
8. Mai 02. 5. Inokulation idem.
10. Mai 02. 1. Jugularaderlaß. Der Hund erhielt 3 abgeschwächte Milzbrandkulturen = 30 ccm Flüssigkeit und 3 virulente Kulturen gleichfalls 30 ccm Flüssigkeit. Das abgezapfte Serum besitzt noch keine immunisierende Wirksamkeit.
12. Mai 02. 6. Inokulation idem.
14. Mai 02. 7. Inokulation idem.
16. Mai 02. 8. Inokulation idem.
18. Mai 02. 9. Inokulation idem.
20. Mai 02. 10. Inokulation idem.
23. Mai 02. 11. Inokulation idem.
25. Mai 02. 12. Inokulation idem.
28. Mai 02. 13. Inokulation idem.
30. Mai 02. 2. Jugularaderlaß. Das Serum besitzt immunisierende und kurative Wirksamkeit.

Aus vorstehendem Protokoll geht hervor, daß eine Vorbereitungsdauer von mindestens 20 Tagen nötig ist, um dem Hundeserum immunisierende und heilkräftige Wirksamkeit zu erteilen. Nach 1 Monate anhaltender Behandlung aber hatte es diese Eigenschaft in hervorragendem Grade erworben.

Sclavo immunisierte Schafe, Ziegen, Kälber, Esel und Pferde gegen Milzbrand. Seine Methode bestand darin, zuerst die Vaccine Pasteur's und darauf die virulenten Kulturen zu injizieren. An der Impfstelle zeigten sich hier und da ganz bedenkliche lokale Phänomene; zwar verzogen sich dieselben bei Ziegen, Schafen und dem Kalbe nach und nach, bei Esel und Pferd aber kamen auf die letzten Injektionen mehr oder weniger ausgedehnte Geschwüre zum Vorschein, in welchen durch Reinkulturen stets der Milzbrandbacillus nachgewiesen wurde. Bei Hunden handelte es sich nie um eine bemerkenswerte Reaktion und von Abscessen war gar keine Rede.

Das Immunisierungsverfahren, dem Sclavo seine Versuchstiere unterwarf, nahm ferner bedeutend mehr Zeit in Anspruch, als die Behandlung der Hunde zum gleichen Zwecke erfordert.

Hierzu kommt noch, daß das Schaf als Quelle des Milzbrandserums, welcher Sclavo bisher den Vorzug gab, nach dessen eigener Aussage

dem Präparator in der Praxis zahlreiche Schwierigkeiten bereitet. Giebt es Schafe, die alles Wünschenswerte leisten, so liefern wieder andere, die Behandlung mag noch so lange fortgesetzt und das Quantum der injizierten Kultur noch so sehr erhöht werden, ein Serum von höchst fragwürdigem Effekt. Von großer Wichtigkeit sind außerdem die Schwankungen in der Wirksamkeit der Sera, die in einer Reihe von Aderlässen ein und demselben Tiere abgezapft wurden; ganz besonderes Interesse aber bietet der Fall, der sich bei mehreren Schafen wiederholte, daß anfänglich und für einige Zeit vorzügliche Serumproduzenten diese kostbare Eigenschaft ganz plötzlich, zum größten Teile und auf die Dauer einbüßten.

Derlei Unannehmlichkeiten ist man von seiten der Hunde nicht ausgesetzt; alle Versuchstiere ohne Ausnahme lieferten nach 1 Monate ein Serum von höchster Wirksamkeit.

Auch reiht sich solchen Vorteilen noch ein anderer an, der sicher nicht zu unterschätzen ist: der Kostenpunkt. Hunde machen hierzulande keinen Preis, die Municipien liefern sie kostenfrei ins Haus und unterhalten ein besonderes Personal, das auf sie Jagd macht.

Nachdem der erste der gegen Milzbrand immunisierten Hunde eine ansehnliche Quantität Serum geliefert hatte, wurde er zum Zwecke der Untersuchung auf allfällige Veränderungen seiner Organe getötet. An der Impfstelle befand sich etwas Oedem, das auch in die umliegenden Muskeln eingedrungen war. Die Lymphdrüsen der Weichen, Achselhöhlen und des Mesenteriums erschienen etwas vergrößert. Die Leber zeigte degeneratio adiposa. Die Milz war etwas vergrößert. Lungen und Nieren gesund. Mit dem Oedem der Impfstelle, der Milz und den Mesenteriumlymphdrüsen wurden Kulturen gesät, die aber keine Entwickelung des Milzbrandbacillus zeigten. Bei der Sektion der Organe war keinerlei Veränderung, noch irgend ein Zeichen, das auf Zerstörung der Bacillen hindeutete, zu sehen.

Die Milzbrandbacillen bleiben im immunisierten Hunde an der Impfstelle lokalisiert und gehen nicht in den großen Kreislauf des Blutes über.

---

Die immunisierende Wirkungskraft des von Hunden herrührenden Serums studierte ich an Kaninchen, deren Körpergewicht ich dabei in Rechnung zog. Die Behandlung begann mit einer Injektion des Milzbrandserums in das subkutane Bindegewebe und nach 20 oder mehr Stunden erfolgte sodann in dieselben Gewebe die Inokulation mit Milzbrandsporen imprägnierter Seidenfäden, die, wie schon früher erwähnt, selbst bei großen Kaninchen nach 72 Stunden eine letale Wirkung haben.

Um die Kaninchen gegen die Infektion der Milzbrandsporen durch Einführung von Milzbrandserum refraktär zu machen, sind für jedes Kilogramm Körpergewicht 3,5 ccm Serum erforderlich.

Kaninchen, welche die Infektion überwunden hatten, spritzte ich nach 10—20—30—40 Tagen neuerdings Milzbrandsporen in das subkutane Bindegewebe, ohne ihren Tod herbeizuführen; ein Beweis, daß die Immunität einige Zeit andauert.

Das Milzbrandserum wirkt indirekt bakterienschädigend, insofern

es, in den Organismus eingeführt, die Zellbaumoleküle zur Bildung einer Substanz stimuliert, die die Bacillen zerstört.

Mischt man Milzbrandbacillen in vitro mit Milzbrandserum und legt aus dem Gemenge Flächenkulturen an, so sind — nach 1—2—3—4—5—10—20—30—40- und mehrstündigem Kontakte mit dem Serum — im Agar zahlreiche Kolonieen von Milzbrandbacillen wahrzunehmen.

Entfernt man dagegen — nach 15—20-stündigem Aufenthalte im subkutanen Bindegewebe der mit Milzbrandserum immunisierten Kaninchen — die mit Sporen imprägnierten Seidenfäden und impft damit das subkutane Gewebe normaler Kaninchen, so findet man, daß sie keine totbringende Wirkungsfähigkeit mehr besitzen. Die Präexistenz der bakterienschädigenden Substanz im Serum ist damit ausgeschlossen; dieselbe bildet sich im Organismus infolge des vom Serum auf den molekulären Zellbau ausgeübten Reizes.

Allerdings gestaltet sich die Sache anders, wenn statt in das subkutane Bindegewebe der Kaninchen — in welchem Falle auch bei Anwendung beträchtlicher Quantitäten von Serum keine sichtbare Störung eintritt — das Milzbrandserum im Verhältnis von 10 ccm auf jedes Kilogramm Körpergewicht des Tieres in die Jugularis eingespritzt wird: beharrlich tritt alsdann, in weniger als 24 Stunden, der Tod ein, und immer mit dem gleichen Sektionsbefund. Stets zeigt sich nämlich massenhaftes Odem von blutigem Serum in der Bauchhöhle und in geringen Mengen auch in den Pleurakavitäten.

Da aber alle Agarkulturen, die man aus Organen an endovenöser Impfung mit Milzbrandserum gestorbener Kaninchen gezüchtet hat, stets steril geblieben sind, so ist nicht daran zu zweifeln, daß der Tod durch toxische Eigenschaft des Serums veranlaßt wurde.

Impft man Kaninchen gleichzeitig mit den Bacillen und dem Milzbrandserum, so zeigt es sich, daß der Tod in der gleichen Zeit eintritt wie bei den mit Milzbrandbacillen allein geimpften Tieren.

Daß in diesem Falle das Serum seine wohlthätige Wirkung einbüßt, ist leicht erklärlich, wenn man bedenkt, daß einige Zeit dazu gehört, bis die vom Milzbrandserum gereizten Zellbauelemente mit der Bereitung der bakterienschädigenden Substanz fertig werden. Findet nun die Einführung von Serum und Bacillen im gleichen Augenblicke statt, so haben die letzteren die schönste Gelegenheit, sich zu entwickeln, bevor die erforderliche Zeit zur Bildung der feindlichen Substanz abgelaufen ist.

Der letale Ausgang gleichzeitiger Inokulation von Milzbrandbacillen und immunisierendem Serum ist zugleich ein neuer Beweis gegen die Präexistenz der bakterienschädigenden Substanz im letzteren.

Auch in die Venen injiziert, hatte die gleichzeitige Einführung von Bacillen und Serum für alle Kaninchen den Tod zur Folge, und dasselbe geschah, wenn das Gemisch in die Bauchhöhle appliziert wurde. Dagegen hat die endovenöse Impfung mit Bacillen und Milzbrandserum auf Kaninchen, die bereits durch subkutane Serumeinspritzung gegen Milzbrandinfektion immunisiert waren, keine tödliche Wirkung.

Im Organismus der mit Milzbrandserum refraktär gemachten Kaninchen verfallen die Bacillen einem Prozeß granulöser Degeneration. Der Verlauf derselben läßt sich in allen seinen Phasen verfolgen, wenn man die abdominale Flüssigkeit von Tieren, die immunisiert und darauf

mit einem Gemenge von Serum und Milzbrandbacillen einer frischen Agarstrichkultur in den Bauch geimpft waren, mittels kapillarer Glasröhrchen aufsaugt.

Mit der Bakteriologie des Milzbrandbacillus werde ich mich eingehend in einer Arbeit beschäftigen, welche die Beschreibung des Phänomens in vielen pathogenen und nicht pathogenen Organismen zum Gegenstande hat.

Alle bisher angestellten Versuche, Meerschweinchen mit Milzbrandserum zu immunisieren, sind total mißlungen.

---

Von der Feststellung der präventiven Wirksamkeit des Hundeserums auf Kaninchen gehen wir zum Studium seiner heilkräftigen Eigenschaften über.

War aktive Milzbrandinfektion der Kaninchen vorhanden, so handelte es sich darum, zu sehen, ob es gelinge, die Tiere mit dem Serum vom Tode zu erretten.

Zur Infizierung dienten, wie gewohnt, die sporengetränkten Seidenfäden, deren tödliche Wirkung auf große und kleine Kaninchen innerhalb 72 Stunden ich schon wiederholt erwähnte. Ihr Vorzug besteht demnach darin, daß der Forscher ein Infektionsmaterial von konstantem Erfolge an der Hand hat.

Zwei dieser Faden inokulierte ich im subkutanen Bindegewebe und spritzte nach einer bestimmten Zeitdauer eine bestimmte Anzahl von Kubikcentimetern Milzbrandserum in dasselbe Gewebe ein.

Wie sich als Endergebnis aller mit Kaninchen angestellten Experimente herausstellt, beträgt das Quantum des zur Kur erforderlichen Serums 7 ccm für jedes Kilo Körpergewicht. Was die Dauer der zwischen beiden Injektionen einzuhaltenden Pause betrifft, so entgingen dem Tode alle Kaninchen, welche 10—20—30—40 Stunden nach der Sporenimpfung das Serum erhielten. Erfolgt dagegen die subkutane Serumeinspritzung — selbst in höheren Dosen als der bezeichneten — erst nach Ablauf der 40. Stunde, so sind die Tiere nicht mehr zu retten.

Diese Resultate legen für die hohe Heilkraft des Milzbrandserums des Hundes ein beredtes Zeugnis ab. Allerdings rettet das von Sclavo bereitete Hammelserum die Kaninchen ebenfalls vom Tode, wenn sie 12 Stunden nach der Infektion durch Milzbrandsporen damit geimpft werden; findet die Einspritzung aber in der 24. Stunde statt, so hat das Serum keine rettende Wirkung mehr. Marchoux rettet Kaninchen, indem er das Serum 24 Stunden nach der Milzbrandinfektion — aber keine Stunde später — injizierte. Bei Sobernheim's ersten Versuchen mißlang das Rettungswerk auf diesem Wege ganz und gar; und die später erzielten Erfolge waren an die Bedingung geknüpft, daß den infizierten Schafen das Heilserum 1 Stunde nach der Milzbrandkultur eingespritzt werde.

Eine günstige Gelegenheit, die Heilfähigkeit des Milzbrandserums am Menschen zu studieren, verdanke ich der Zuvorkommenheit des trefflichen Kollegen Prof. Remedi von der chirurgischen Klinik, dessen ärztlichen Bericht ich hier in Abschrift folgen lasse:

Collu Giovanni, 50 Jahre alt, Fuhrmann, von S. Sperate. Aufnahme in die Klinik 18. Februar 1902.

Der Beginn der Krankheit datiert vom 15. dieses Monats. Patient nahm im Laufe des Tages ein Anschwellen der rechten Superhyoideum-Region wahr. Abends traten zuerst Frostschauer, dann Fieber ein. Die Geschwulst erschien auf der Höhe einer mehrere Tage alten, kleinen Hautabschürfung, von einem kleinen Furunkel herrührend, welches der Kranke mit dem Fingernagel geöffnet und durch Entfernung der Kruste wiederholt irritiert hatte.

Am 16. dieses Monats hatte die Geschwulst an Umfang zugenommen, verursachte jedoch geringe Schmerzen und wurde örtlich mit feuchtwarmen Umschlägen kuriert. Abends stellte sich, nach heftigen Frostschauern, ein neuer Fieberanfall ein. Am 17. verschlimmerten sich die lokalen Phänomene zusehends, auch begann der Patient Deglutitionsbeschwerden zu verspüren.

Am 18. dieses Monats präsentiert sich der Kranke im Ambulatorium der Klinik, wird aufgenommen und im Absonderungszimmer untergebracht.

Objektive Untersuchung. Die Pustula nimmt das Centrum der rechten Superhyoideum-Region ein und ist mit kleinen, gräulich-weißen Phlyktänen bedeckt, die eine gelblich-weiße Flüssigkeit enthalten. Kollaterales Oedem, an der entsprechenden Seite über den ganzen Teil des Halses und die untere Gesichtshälfte verbreitet, dehnt sich auch nach der inneren Seite der linken Zungenbeingegend aus.

Tumefakion der oberen Lymphdrüsen in der linken Carotidengegend und der Unterkinnmandeln.

Die bakteriologische Untersuchung des Phlyktäneninhaltes weist die Gegenwart des Milzbrandbacillus nach.

Bei Aufnahme in die Klinik (12 Uhr 30 Minuten) beträgt die Körpertemperatur 37,7°.

Der Harn enthält Eiweißspuren.

Es werden sogleich 8 ccm Milzbrandserum unter die Haut der Bauchwand injiziert.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Nachm. | 1 Uhr | 30 Min. | Temper. | 37,2° | |
| „ | 2 „ | 30 „ | „ | 37,1° | |
| „ | 3 „ | 30 „ | „ | 37,3° | |
| „ | 4 „ | 30 „ | „ | 37,5° | Frostschauer |
| „ | 5 „ | 30 „ | „ | 38,2° | |
| „ | 6 „ | 30 „ | „ | 39,0° | subkutane Injektion von 8 ccm Serum |
| „ | 7 „ | 30 „ | „ | 39,1° | |
| „ | 8 „ | 30 „ | „ | 39,3° | |
| „ | 9 „ | 30 „ | „ | 39,5° | |
| „ | 10 „ | 30 „ | „ | 39,5° | |
| „ | 11 „ | 30 „ | „ | 39,4° | |

19. Februar.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 0 Uhr | 30 Min. | Temper. | 39,3° | |
| „ | 1 „ | 30 „ | „ | 39,3° | |
| „ | 6 „ | | „ | 38,5° | |
| „ | 8 „ | | „ | 38,1° | subkutane Injektion von 10 ccm Serum. Das Oedem scheint stellenweise abnehmen zu wollen. Harn enthält noch immer Eiweiß |
| „ | 12 „ | | „ | 37,8° | |
| Nachm. | 3 „ | | „ | 38,3° | |
| „ | 7 „ | | „ | 38,5° | |
| „ | 10 „ | | „ | 38,5° | |

20. Februar.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vormittags | 6 Uhr | Temperatur | 37,0° | |
| „ | 9 „ | „ | 37,2° | Injektion von 15 ccm Serum. Oedem vermindert, dafür hat die Geschwulst der Unterkinnlymphdrüsen stark zugenommen. Harn frei von Eiweiß. Nachm. 2 Uhr werden weitere 15 ccm Serum eingespritzt |
| „ | 12 „ | „ | 37,3° | |
| Nachmitt. | 3 „ | „ | 37,4° | |
| „ | 6 „ | „ | 37,7° | |
| „ | 9 „ | „ | 37,6° | |

21. Februar.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Vormittags | 6 Uhr | Temperatur | 36,8° | |
| „ | 9 „ | „ | 36,4° | das Oedem verschwunden, die Drüsengeschwulst vermindert und, damit übereinstimmend, auch die Geschwulst der Pustula, die sich wieder mit einer schwärzlichen Kruste bedeckt hat |
| „ | 12 „ | „ | 36,6° | |
| Nachmitt. | 3 „ | „ | 36,8° | |
| „ | 6 „ | „ | 37,0° | |
| „ | 9 „ | „ | 36,9° | |

Am 27. Februar wird der Kranke, vollständig geheilt, entlassen.

Der Gesamtverbrauch an Milzbrandserum betrug 56 ccm. An der Impfstelle trat keine Reaktion auf. Als Effekt der serotherapeutischen Kur ist vor allem außer der Besserung der allgemeinen Krankheitsphänomene Temperaturabnahme am 2. und fast komplette Apyrexie am 3. Tage hervorzuheben.

Was die lokalen Erscheinungen betrifft, so beobachtete man zuerst Abnehmen, dann gänzliches Verschwinden des Oedems; dagegen nahm die Drüsengeschwulst zu, um jedoch auf die am 3. Tage erneuten Seruminjektionen (30 ccm) wieder nachzulassen. Ich mache hier darauf aufmerksam, daß am 2. Tage nur 10 ccm, und zwar morgens, injiziert wurden, da man angesichts der fortgeschrittenen Abnahme des Oedems eine Wiederholung der Einspritzung nicht für nötig hielt. Es ist dies ein deutlicher Wink, daß die serotherapeutische Kur erst dann unterbrochen werden darf, wenn außer dem Verschwinden der Fiebertemperatur und Abnehmen des kollateralen Oedems auch eine entschiedene Volumverminderung der geschwollenen Mandeln stattgefunden hat.

Cagliari, August 1902.

---



# Notiz zur Immunität der Schnecken gegen Impfmilzbrand.

[Aus dem hygienischen Institute der k. k. Universität in Innsbruck.]

Von **A. Lode**, Innsbruck.

Nach der scheinbar einzigen vorliegenden Angabe von Karliński[1]) hätte man die Schnecken den durch natürliche Immunität gegen Impfmilzbrand ausgezeichneten Tieren zuzurechnen. Diese Angabe, welche Karlinski an *Arion empiricorum*, *Arion subfuscus*, *Limax cinereo niger* und *cinereus*, ferner an *Tachea nemoralis* machte, trifft, wie wir gelegentlich erhoben haben, auch für die so verbreitete Weinbergschnecke (*Helix pomatia*) zu. Doch ist ihre Immunität keine unbegrenzte, und es gelingt leicht, diese aufzuheben, wenn man die Schnecken bei höheren Temperaturen hält und das Impfmaterial direkt in die Leibeshöhle einspritzt. Es bedarf dann keiner besonders virulenten Kultur, um septische Infektionen hervorzurufen.

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. V. p. 8.

| Schnecke No. | Versuchs-temperatur | Infektionsmodus | Versuchsresultat |
|---|---|---|---|
| | | I. Versuchsreihe 8. Juni. | |
| 1 | 32° C | Injektion in die Leibeshöhle | † nach 3 Tagen (mikroskop. u. kulturell Milzbrand) |
| 2 | 32° C | do. | † nach 3 Tagen (mikroskopisch Milzbrand nicht rein) |
| 3 | 32° C | do. | † nach 4 Tagen (Befund wie 1) |
| 4, 5 | 32° C | intramuskulär in den Fußmuskel | leben noch nach 2 Monaten |
| 6 | 32° C | Kontrolltier | „ „ „ 2 „ |
| 7 | 32° C | „ | „ „ „ 2 „ |
| 8 | Zimmertemp. | intramuskulär | † nach 7 Tagen, negativer Sektionsbefund |
| 9, 10, 11, 12 | „ | intramuskulär und in die Leibeshöhle | leben noch nach 2 Monaten |
| | | II. Versuchsserie 17. Juni. | |
| 13 | 32° C | Injektion in die Leibeshöhle | † nach 4 Tagen (mikroskopisch und kulturell Milzbrand) |
| 14 | 32° C | | † nach 1 Tage (Milzbrandbakterien nur in der Leibeshöhlenflüssigkeit) |
| 15 | 32° C | | † nach 8 Tagen (wie 13) |
| 16, 17, 18 | 32° C | intramuskulär | leben noch nach 2 Monaten |
| 19, 20 | 32° C | Kontrolltiere | „ „ „ 2 „ |
| 21 | 37° C | Injektion in die Leibeshöhle | † nach 1 Tage (Milzbrand mikroskop. u. meist auch kulturell) |
| 22 | 37° C | do. | † nach 12 Tagen do. |
| 23 | 37° C | do. | † „ 1 Tage do. |
| 24 | 37° C | intramuskulär | † „ 9 Tagen do. |
| 25 | 37° C | | † „ 12 „ do. |
| 26 | 37° C | | † „ 9 „ do. |
| 27, 28 | 37° C | Kontrolltiere | † „ 9 und 13 Tagen (negativer Sektionsbefund) |
| 29, 30, 31 | Zimmertemp. | Injektion in die Leibeshöhle | leben noch nach 2 Monaten |
| 32, 33, 34 | „ | intramuskulär | „ „ „ 2 „ |
| | | III. Versuchsserie 25. Juli. | |
| 35 } wurden durch 7 Wochen bei 32° C gehalten | 32° C | Injektion in die Leibeshöhle | † nach 2 Tagen (Befund Milzbrand) |
| 36 | 32° C | do. | † nach 36 Stunden do. |
| 37 | 32° C | do. | † „ 2 Tagen do. |
| 38 | 32° C | Kontrolltier | lebten noch 2 Wochen später |
| 39 | 32° C | „ | „ „ 2 „ „ |
| 40, 41, 42 (25. Juli in d. Brütschrank gegeb. | 32° C | Injektion in die Leibeshöhle | † nach 2—5 Tagen (Befund Milzbrand) |

Aus den Versuchen ergab sich folgendes:

1) Die Weinbergschnecke ist sowohl bei Injektion in die Muskulatur als in die Leibeshöhle refraktär gegen Impfmilzbrand, wenn die Versuchstiere bei Zimmertemperatur gehalten werden.

2) Setzt man sie Temperaturen von ca. 32° C aus, so gehen nur jene Tiere zu Grunde, welchen der Impfstoff in die Leibeshöhle einverleibt wird, während die intramuskuläre Infektion erfolglos bleibt. Bei den erlegenen Tieren ist der Milzbrand in vielen Fällen in allen Organen und im Blute des Herzens nachweisbar, so daß man das Bild einer septikämischen Infektion vor sich hat.

Kontrollschnecken halten sich bei 32° C wochen- und vermutlich monatelang. Wir haben die Tiere auf Rasenziegeln gehalten, 1—2mal täglich mit frischem Wasser und etwa 2tägig mit jungen Salatblättern versorgt. Trotz der hohen Feuchtigkeit im Behälter blieben die Tiere meist in ihrem Gehäuse eingeschlossen. Auch bei an die Brütofentemperatur von 32° C gewöhnten Tieren tritt nach Injektion in die Leibeshöhle der Tod ein, während die Kontrolltiere am Leben bleiben.

3) Bei Temperaturen von 37° C sterben infizierte und Kontrolltiere annähernd zur gleichen Zeit, so daß, ähnlich wie bei den analogen Versuchen, beim Frosche es zweifelhaft bleiben muß, ob die reichlich im Kadaver nachweisbaren Milzbrandbacillen die Todesursache sind oder nur nebensächliche Befunde darstellen.

---

Nachtrag bei der Korrektur. Nach Abschluß der Versuche fand ich noch eine Angabe Kowabwsky's (Etudes expérim. sur les glandes lymphatiques des invertébrés [Bull. de l'académie des sciences de St. Pétersbourg. Nouv. Sér. IV. (XXXVI.) p. 280]), aus welcher hervorgeht, daß dieser Forscher das Verhalten der Weinbergschnecke gegen Impfmilzbrand bereits studiert hat. Er stellte fest, daß sowohl bei Zimmertemperatur als auch beim Verweilen im Brütschranke — über die Temperatur des Thermostaten fehlt leider eine Angabe — *Helix pomatia* refraktär gegen Milzbrandkulturen sei, auch wenn diese in die Leibeshöhle einverleibt worden waren.

Den bei einigen im Thermostaten gehaltenen Schnecken eingetretenen Tod bei mikroskopischem Milzbrandbefunde bezieht K. nicht auf eine septische Infektion, sondern auf die lange Konservierbarkeit der Bakterien im Gewebe. Mikroskopisch gelang nach Injektion der Nachweis färbbarer Mikrobien noch nach 24 Tagen; dagegen starben sie scheinbar nach 48stündigem Verweilen im Tierkörper ab, indem sie dann nicht mehr kultivierbar waren.

Nachdem bei unseren Versuchen im Thermostaten von 32° C und Injektion in die Leibeshöhle, abgesehen von dem eindeutigen Ausfalle der Tierinfektionen, Milzbrandbakterien auch nach 8 Tagen kulturell nachweisbar und häufig, wie es bei minder empfänglichen Tieren vorkommt, in sehr langen Fäden angeordnet waren, halten wir an der Annahme fest, daß die Mikrobien die tödliche Infektion verursacht haben und keinen nebensächlichen Befund darstellten, was man nach K. annehmen müßte.

---

# Ueber die baktericide Wirkung einiger Riechstoffe.

[Aus dem Laboratorium der königl. chirurgischen Universitätskinik zu Berlin.]

Eine vorläufige Mitteilung.

Von Dr. **Hugo Marx,** Charlottenburg.

Der uralte Glaube an den Schutz, den stark riechende Stoffe in Zeiten der Völkerkrankheiten gegen Ansteckung verleihen, erweist sich vor der Kritik der modernen Bakteriologie als ein richtiger, glücklicher Instinkt.

In Behring's Desinfektionsarbeit (Zeitschrift für Hygiene. 1890) finden wir Angaben und Tabellen über die baktericide Wirkung einer Reihe ätherischer Oele, die von Behring selbst und von zwei französischen Autoren (Cadéac und Meunier) untersucht wurden. Behring erwähnt noch, daß dem Nitrobenzol der Bittermandelseife eine gewisse antiseptische Wirkung zukomme. Jüngst hat nun Konrádi im Archiv für Hygiene (Bd. XLIV. 1902. Heft 2) in einem Aufsatze „Ueber die baktericide Wirkung der Seifen“ Mitteilungen gemacht über die antiseptischen Eigenschaften einer mit Terpineol, Heliotropin, Vanillin und Cumarin parfümierten 5-proz. Resorcinseife. In der Konzentration von 1:100000 verhinderte die Seife das Wachstum der geprüften Arten (Anthrax, Typhus, B. coli, Staphylococcus pyogenes aureus); eine Seifenlösung von 1:1000 tötete bei 37° in 4 Stunden die Wuchsformen der genannten Arten. Entfernte er die genannten Riechstoffe aus seiner Seife, so blieben jene bemerkenswerten Desinfektionsergebnisse aus.

Untersuchungen über die baktericide Wirkung der Seifen, die ich im Laboratorium der von Bergmann'schen Klinik in Berlin angestellt habe, und deren Ergebnisse demnächst an anderer Stelle veröffentlicht werden sollen, gaben mir Veranlassuug, den Angaben Konrádi's nachzugehen.

Als Testobjekte dienten mir Anthrax und Staphylococcus pyogenes aureus, der Nährboden war in allen Versuchen Bouillon, die Beobachtungszeit 72 Stunden bis 8 Tage, die Beobachtungstemperatur 37°. Die Vernichtung der Wuchsformen wurde geprüft an Seidenfäden, die mit der betreffenden Art imprägniert waren, nach Beendigung der Einwirkungszeit des Desinficiens wurden die Fäden in sterilem, destilliertem Wasser abgespült und in hochgefüllte Bouillonröhrchen gebracht.

## I. Die Verhinderung des Wachstums.

Terpineol 1:1000 (im Nährboden gelöst),
Nitrobenzol 1:100 ( „ „ „ )
verhindert das Wachstum von Anthrax und Staphylococcus p. a.

Agarplatten werden
a) ohne Zusatz,
b) mit Zusatz von
1) Terpineol
2) Nitrobenzol } je 1 Tropfen

3) Heliotropin }
4) Vanillin } partielle Bestreuung der Platte

eine halbe Stunde lang dem Luftzutritt ausgesetzt. Die gewöhnlichen (a-) Platten zeigen nach 72 Stunden reichliche Entwickelung der gewöhnlichen Kolonieen der Luftbakterien, die Riechstoff (b-) Platten bleiben ganz (bei Terpineol) oder partiell steril und zeigen im letzteren Falle nur an Stellen, die möglichst von den Bestreuungspunkten entfernt liegen, spärliche Kolonieen.

## II. Entwickelungshemmung.

Unter Entwickelungshemmung ist zu verstehen, daß die betreffenden Wuchsformen langsamer sich entwickeln als unter normalen Bedingungen, so zwar, daß sie nicht vernichtet, wohl aber in ihren Lebensbedingungen deutlich durch das zu prüfende Agens geschädigt werden.

Das entwickelungshemmende Minimum liegt für

1) Terpineol bei 1:500
bei einer Einwirkungsdauer
von 60 Minuten auf Anthrax }
von 40 Minuten auf Staphylococcus } 37°

2) Nitrobenzol bei 1:10
bei einer Einwirkungsdauer von 24 Stunden auf Anthrax bei 37°.

Tierversuch: Drei gleichaltrige Kaninchen (K. I, K. II, K. III) werden mit je $^1/_3$ ccm Anthrax subkutan infiziert.

K. II bekommt $^1/_2$ ccm }
K. III „ $^3/_4$ „ } einer 10-proz. Terpineollösung

durch denselben Stichkanal subkutan.

K. I stirbt nach 30 Stunden: sehr große Milz,
K. II „ „ 48 „ : mittelgroße Milz,
K. III „ „ 72 „ : Milz von normaler Größe.

## III. Vernichtung der Wuchsformen.

Terpineol tötet Anthrax bei einer Konzentration von 1:100 in 60 Minuten; Staphylokokken bei einer Konzentration von 1:10 in 60 Minuten[1]. Nitrobenzol vernichtet selbst bei einer Konzentration von 1:10 in 24 Stunden weder Anthrax noch Staphylokokken. Bei Heliotropin und Vanillin kann von einer Vernichtung der Wuchsformen nicht die Rede sein. Besonders wirkungsvoll erweist sich das Terpineol in Verbindung mit schäumender (flüssiger) Kaliseife: Eine 10-proz. Kaliseifenlösung mit einem Terpineolgehalt von 1 Proz. vernichtet schäumend bei 37° Staphylokokken in 12 Minuten, während Kaliseife und Terpineol bei der gleichen Einwirkungszeit getrennt ganz wirkungslos bleiben.

---

In Bakterienemulsionen bewirken die Riechstoffe, am intensivsten das Terpineol, Agglutination, deren Ursache vor allem in der physikalischen Beschaffenheit (öligen Konsistenz) der Substanzen gesucht werden dürfte; ob diese Agglutination bei dem Zustandekommen der baktericiden Wirkung eine entscheidende Rolle spielt, ist mindestens zweifelhaft.

---

1) Bemerkenswert ist, daß Anthrax weniger resistent gegen das Mittel ist, als der Staphylococcus p. a.

Dagegen müssen wir ein anderes, diesen Riechstoffen eigentümliches Phänomen heranziehen zur Erklärung wie zum Verständnis ihrer antiseptischen Qualitäten:

Läßt man Terpineoldämpfe oder Terpineol in Substanz auf einen mit Jodkaliumlösung und Stärkekleister getränkten Papierstreifen einwirken, so färbt sich der Streifen alsbald blau. Noch deutlicher tritt diese Reaktion ein, wenn man zu einer erwärmten Jodkalium-Stärkekleisterlösung im Reagierglase einige Tropfen Terpineol giebt. Heliotropin bedarf mehrerer, bis zu 24 Stunden, um die Blaufärbung hervorzurufen; Vanillin noch längerer Zeit, während sie beim Terpineol fast augenblicklich hervortritt. Die bekannte Ozonreaktion lehrt, daß die Blaufärbung dem durch den aktiven Sauerstoff aus dem Jodkali abgespaltenen Jod zukommt. Unser Versuch zeigt also, daß die Riechstoffe im stande sind, aktiven Sauerstoff frei werden zu lassen, bezw. aus der atmosphärischen Luft frei zu machen, und daß der **Grad dieser** Fähigkeit in einem direkten Verhältnis steht zu ihren baktericiden Eigenschaften.

Daß das „am Licht langsam oxydierte" Terpentinöl [1]) aktiven Sauerstoff entwickelt, bezw. wirksam werden läßt, ist bekannt, gleichwie Schleppegrell's (Philadelph. Med. News. 1891) erfolgreicher Versuch, Terpentinöldämpfe zur Desinfektion chirurgischer Instrumente zu benutzen (vergl. auch Riedlin, Archiv für Hygiene. Bd. VII). Diesen längst konstatierten Thatsachen schließen sich unsere Versuche an, indem sie uns zugleich ein tieferes Verständnis der baktericiden Wirkung der Riechstoffe zu eröffnen scheinen.

Jedenfalls zeigen sich die geprüften Riechstoffe als ganz respektable Antiseptica; in meiner Seifenarbeit (s. o.) habe ich zu zeigen versucht, wie der Chirurg sich ihrer zu seinem Nutzen bedienen mag: die wirksame Kombination von Kaliseife und Terpineol, die ich bereits oben hervorhob, legt die praktische Bedeutung der Riechstoffe nahe genug.

Im Oktober 1902.

---



# Ueber den vererbten und intrauterinen Uebergang der agglutinierenden Eigenschaften des Blutes und die Bildung der Agglutinine im Körper der Embryonen.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium von Prof. Dr. N. Tschistowitsch zu St. Petersburg.]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. **W. Jurewitsch,** St. Petersburg.

Im ersten Teile meiner Arbeit habe ich mir das Ziel gestellt, die Frage zu lösen, ob das Blut der Früchte normaler Kaninchen und Meer-

1) Binz, Artikel „Ozon" in Eulenburg's Realencyklopädie.

schweinchen während des intrauterinen Lebens die Eigenschaft besitzt, den Typhusbacillus zu agglutinieren. Wie bekannt, besitzt sehr oft das Blut erwachsener Kaninchen diese Eigenschaft, die selbst bei der Verdünnung des Blutes 1 : 60—80 noch zu beobachten ist. Bei den Meerschweinchen ist diese Eigenschaft sehr unbedeutend oder fehlt ganz.

Es erwies sich, daß das Blut aller von mir untersuchten Embryonen von 10 normalen Meerschweinchen den Typhusbacillus gar nicht zu agglutinieren vermag. Was die Kaninchenembryonen anbetrifft, so wurde bei den Früchten, welche von die agglutinierenden Eigenschaften entbehrenden Müttern stammten, keinmal die Anwesenheit der Agglutinine im Blute beobachtet; bei den Früchten dagegen, welche von solchen Müttern stammten, deren Blut agglutinierende Eigenschaften zeigte, konnte oft diese Eigenschaft beobachtet werden, obwohl bei sehr schwachen Verdünnungen, etwa sechsmal schwächer als bei dem Blute der Mutter. Aber auch dies kann nicht als Regel gelten: Unter den 15 von mir untersuchten Kaninchenwürfen zeigten nur 9 Mütter diese agglutinierende Eigenschaft im Blute, da nur in 5 Würfen bei den Jungen die Agglutinine nachgewiesen werden konnten. Von einem und demselben Kaninchen, dessen Blut die Typhusbacillen agglutiniert, können Junge zur Welt gebracht werden, die einmal Agglutinine im Blute zeigen, das andere Mal aber keine Spur davon haben. Was dagegen die Früchte von einem Wurfe anbetrifft, so besitzen sie entweder alle die agglutinierende Eigenschaft oder aber entbehren derselben alle.

Im zweiten Teile meiner Arbeit habe ich versucht, die Frage zu entscheiden, ob die Frucht während ihres intrauterinen Lebens bei der Infektion der Mutter mit Typhusbacillen solche Eigenschaften, wie die Agglutinine bilden kann. Die Lösung dieser Frage war die unmittelbare Folge der Arbeit von Prof. Dr. N. Tschistowitsch[1]), die er gemeinsam mit mir gemacht hat, und in welcher nachgewiesen wurde, daß die Frucht während ihres intrauterinen Lebens auf die Infektion der Mutter mit Leukocytose nicht reagiert; es ist dabei gleichgültig, ob die Infektion der Mutter mit Hypo- oder Hyperleukocytose verläuft.

Die Anwesenheit der Agglutinine im Blute der Embryonen bei der Erkrankung der Mutter ist schon in der Litteratur erwähnt worden, da aber die Ergebnisse in dieser Richtung sich widersprechen, so war ich gezwungen, diese Thatsache nochmals nachzuprüfen und dazu eine Versuchsreihe anzustellen. Dieselben bestanden in der Infizierung trächtiger Weibchen mit nachfolgender Prüfung des Agglutinationsvermögens der Früchte.

Da nach Injektionen von Typhuskulturen eine bedeutende Menge von Agglutininen im Blute erst nach einer ziemlich langen Zeit erscheint, ungefähr nach 10—12 Tagen, so nahm ich am Anfange meiner Arbeit trächtige Weibchen im letzten Drittel ihrer Schwangerschaft, vermutend, daß am Tage der Geburt die Agglutinationseigenschaften des Blutes der Mutter ihren höchsten Grad erreichen werden. Da aber die Injektion lebendiger Typhusbacillen sehr oft Frühgeburten verursachte, nämlich schon in den ersten 24 Stunden nach der Injektion, kleine Dosen dagegen einen hochgradigen Agglutinationswert hervorzurufen nicht imstande waren, so mußte ich einerseits solche Weibchen wählen, die sich am Anfange der Schwangerschaft befanden, an-

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1901. p. 753.

dererseits die Methode der graduellen Immunisation durch wiederholte Einspritzungen vorher getöteter 10-tägiger Typhusbacillenkulturen, dann durch Erwärmung auf 55—60° abgeschwächter und endlich lebendiger eintägiger Typhusbacillenkultur anwenden.

Unter diesen Umständen gelang es mir, eine solche Entwickelung der Agglutinine im Blute der Meerschweinchen zu erreichen, daß in einigen Fällen bei der Verdünnung des Blutes von 1:4000—5000 die Agglutination noch nachgewiesen werden konnte, ohne irgendwie den Schwangerschaftsverlauf zu stören.

Die Agglutination wurde nur mikroskopisch festgestellt im hängenden Tropfen. Als Grenze derselben war eine solche Blutverdünnung angenommen, bei welcher es noch möglich war, in einigen Gesichtsfeldern solchen Bacillengruppen zu begegnen, die wenigstens aus 6 zusammengeballten Typhusbacillen bestanden, bei weiterer Verdünnung dürften solche Gruppen nicht entstehen. Im ganzen wurden 31 derartige Versuche gemacht, abgesehen von den Fällen, die mit Frühgeburt endigten. Unter diesen 31 konnte ich in 3 Fällen bei den Früchten keine Spur von Agglutination nachweisen, obwohl bei den Müttern dieselbe bei einer Verdünnung von 1:640—1000 zu stande kam. In allen anderen Fällen konnte aber die Agglutinationsreaktion immer im Blute der Früchte nachgewiesen werden, außer in 4, wo auch bei den Müttern sehr schwache Agglutination an dem Tage der Geburt vorhanden war. Es ist nicht gelungen, die Beziehungen des Agglutinationsvermögens bei der Frucht zu demjenigen der Mutter weder mit den Schwangerschaftsperioden noch mit dem Agglutinationswert des Blutes der Mutter in Zusammenhang zu bringen.

Die Agglutinationskraft bei den Früchten erwies sich von 3 bis 30mal schwächer als bei den Müttern; nach der Untersuchung von 25 Würfen war sie im Durchschnitt 10mal schwächer.

Von der Vermutung ausgehend, daß es im großen und ganzen in allen beschriebenen Fällen sich nur um einen Uebergang der Agglutinine der Mutter in die Frucht durch die Placenta handelte, habe ich die Einführung von Agglutinine enthaltenden Sera in die trächtigen Weibchen vorgenommen. In diesen Versuchen wurden Sera immunisierter Meerschweinchen, Kaninchen und Pferde gebraucht[1]). Die Einspritzung der fertigen agglutinierenden Sera hatte in allen 9 Fällen bei den trächtigen Weibchen keine Temperaturerhöhung zur Folge. Die Agglutination im Blute der Mütter kam noch bei der Verdünnung von 1:500 zustande. 24 Stunden nach der Einspritzung wurde die Sectio caesarea vorgenommen oder die normale Geburt abgewartet. Es sprachen dabei keine Gründe für die Bildung von Agglutininen im Organismus der Mutter, noch weniger in dem der Frucht. In allen diesen Fällen konnte ich im Blute der Früchte die Anwesenheit der Agglutinine nachweisen. Dabei stand die Stärke der Reaktion der Agglutination im Blute der Frucht zu der der Mutter ungefähr in derselben Beziehung, wie in den Fällen, wo die Mutter der typhösen Infektion unterworfen wurde. Es erwies sich weiter bei der Beobachtung des Agglutinationsvermögens der Früchte während ihrer ersten Lebenswochen, daß alle Früchte sich allmählich und gleichzeitig der ihrem Organismus augenscheinlich fremden Agglutinine ent-

---

1) Das antityphöse Serum vom Pferde war liebenswürdigerweise von Herrn Prof. Dr. Chantemesse in Paris Herrn Prof. N. Tschistowitsch zugesandt worden.

ledigten, gleichgiltig, ob sie von Müttern, welche während der Schwangerschaft mit Typhus infiziert wurden, stammten, oder von Müttern, welchen fertige Agglutinine eingespritzt worden waren. Die agglutinierende Eigenschaft des Blutes der Früchte verschwindet in beiden Fällen verhältnismäßig gleich schnell. Auf Grund dieser Thatsachen komme ich zu dem Schlusse, daß die Früchte der Meerschweinchen während ihres intrauterinen Lebens selbst keine Agglutinine bilden, weder bei normalen Lebensverhältnissen der Mutter noch dann, wenn die vorher normale Mutter während der Schwangerschaft der typhösen Infektion widersteht.

Wir haben schon erwähnt, daß man bei erwachsenen Kaninchen nicht selten Exemplaren begegnet, die agglutinierende Eigenschaften des Blutes besitzen. Andererseits haben wir schon gesagt, daß von den Kaninchen, welche Typhusbacillen zu agglutinieren vermögen, solche Früchte abstammen, deren Blut einmal eine Agglutinationsfähigkeit besitzt, die mehrmals schwächer ist, als die der Mutter, ein anderes Mal aber gar keine Agglutination zeigt. Nach der Erklärung dieser Thatsachen forschend, kam mir die Vermutung, daß die Mutter nicht die Agglutination selbst, sondern die Fähigkeit, dieselben zu produzieren, den Früchten übergeben könnte. Die Aufklärung dieser Frage war mein Ziel im dritten Teil meiner Arbeit.

Nachdem ich das weitere Leben der Jungen (4 Würfe mit im ganzen 16 Früchten) beobachtet hatte, fand ich, daß mit der Zeit Tiere beider Kategorieen die Agglutinine in vermehrter Menge zu bilden anfingen, so daß einige Wochen nach der Geburt die agglutinierende Eigenschaft ihres Blutes bedeutend größer war, als die der Mütter.

Diejenigen Kaninchen aber, die von Müttern, deren Blut keine Spur von Agglutininen zeigte, stammten, bilden keine Agglutinine, ebensowenig am Tage der Geburt, als auch während ihrer folgenden Lebenswochen.

Nachdem ich an normalen Kaninchen die Resultate gewonnen hatte, die dafür sprachen, daß die Fähigkeit, Agglutinine zu bilden, vererbt werden kann, entschloß ich mich, an Meerschweinchen, deren Blut normalerweise Typhusbacillen nicht agglutiniert, zu verfolgen, ob die Früchte eine Agglutinationsfähigkeit vererben können, wenn diese von den Müttern schon vor der Schwangerschaft acquiriert worden ist. Bei einigen Meerschweinchen wurde nach wiederholten Injektionen von Typhuskulturen ein genügend großer Agglutinationswert im Blute hervorgerufen, dann wurden die Tiere in Ruhe gelassen.

Nach einer verschieden langen Zeit (von 1—6 Monaten), nachdem ein Kontrollversuch gezeigt hatte, daß Agglutinine im Blute noch vorhanden waren, wurden zu ihnen die Männchen zugelassen.

Während der Schwangerschaft wurden selbstverständlich keine Injektionen von Typhuskulturen gemacht. Zur Zeit sind von mir 4 Würfe von solchen Müttern untersucht, und es ergab sich folgendes: Indem, wie aus dem zweiten Teile meiner Arbeit folgte, im Blute der Früchte, die von solchen Müttern stammten, welche während der ganzen Schwangerschaft immunisiert wurden, eine verhältnismäßig schwache Agglutinationsfähigkeit (viel schwächer als bei der Mutter) im Blute der Neugeborenen nachgewiesen werden konnte, war hier in einem Falle die Agglutinationsfähigkeit im Blute der Neugeborenen ebenso groß, wie die der Mutter, in 2 Fällen 2mal stärker und im vierten Falle übertraf sie 5mal die-

jenige der Mutter, und kam zum Vorschein sogar bei der Verdünnung von 1 : 4000.

Einen solchen Agglutinationswert konnte ich bei erwachsenen Meerschweinchen nur mit Mühe durch wiederholte Einspritzungen typhöser Kulturen erlangen. In diesem letzten Falle stand die Frucht in Betreff ihrer Agglutinationsfähigkeit in denselben Beziehungen zu der Mutter, in welchen in der zweiten Serie der Versuche die Mütter zu den Früchten standen. Hier ist natürlich nicht die Mutter als Quelle der Agglutinine im Blute der Frucht anzusehen. Bei der ganzen Arbeit war immer dieselbe Typhuskultur angewandt, die mehrmals mit dem Blute Typhuskranker kontrolliert wurde.

Da die Ergebnisse der Frage, welche im dritten Teile meiner Arbeit berührt ist, noch nicht ganz ausreichend sind, so will ich die Beobachtungen in dieser Richtung noch weiter verfolgen.

---

## Inhalt.



---

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXIII. No. 2.



# Untersuchungen über Sarcina, Streptococcus und Spirillum.

[Arbeit aus dem Botanischen Institut zu Marburg.]

Von **David Ellis,** B. Sc. (London) aus Aberystwyth, Wales.

Mit 2 Tafeln.

(Fortsetzung.)

Diese Sporenentwickelung findet in den Uni-, Diplo-, Tri- und Tetrakokken statt; dabei brauchen sich nicht sämtliche Zellen einer Gruppe an der Sporenbildung gleichzeitig zu beteiligen, manchmal ist nur eine einzige Zelle der Gruppe mit einer Spore versehen, manchmal hat die Entwickelung in 2 oder 3 Zellen eines Tetracoccus oder 2 Zellen eines Tricoccus stattgefunden, während die übrigen Zellen der gleichen Gruppe ein unverändertes Aussehen zeigen, oder aber frühere Entwickelungsstadien von Sporen aufweisen. Am häufigsten sieht man aber die sämtlichen Zellen einer Gruppe, entweder mit fertigen Sporen oder mit jungen Sporen im gleichen Stadium der Entwickelung versehen (Fig. 2, 4, 55, 58).

Da die Sporenentwickelung unter den Coccaceen bisher nur für Sarcina pulmonum studiert ist, war es interessant, die beiden Species zu vergleichen. Für die Sporangien von Sarcina pulmonum beschreibt Hauser (11) den Vorgang folgendermaßen: „Diese Sporenentwickelung findet hauptsächlich in den Tetraden und in den regelmäßigen kubischen Formen statt; dabei brauchen sich keineswegs sämtliche Zellen eines derartigen Zellverbandes an der Sporenbildung gleichzeitig zu beteiligen, vielmehr findet man, besonders bei Beginn der Sporenentwickelung, bald nur eine einzige Zelle der Tetrade, oder des 8-zelligen Würfels mit einer hellglänzenden Spore versehen, bald hat die Entwickelung in 2 oder 3 Zellen stattgefunden, während die übrigen Zellen des gleichen Verbandes ein unverändertes Aussehen zeigen und zunächst an der Sporenbildung gar nicht teilzunehmen scheinen, oder aber frühere Entwickelungsstadien von Sporen aufweisen. Ja nicht selten findet man Tetraden, bei welchen zwei nebeneinander liegende Zellen bereits fertige Sporen enthalten, während die beiden anderen Zellen deutliche Streckung und leichte Einschnürung erkennen lassen, also für die Teilung vorbereitet erscheinen. Häufig sieht man aber auch sämtliche Zellen einer Tetrade oder eines 8-zelligen Würfels in Sporen umgewandelt, und es werden dann zunächst die glänzenden Kügelchen wie durch eine helle durchsichtige Masse, wahrscheinlich die vergallerte ursprüngliche Zellmembran, noch in der ursprünglichen Lage des früheren Zellverbandes zusammengehalten.“

Also für die beiden Species stimmen die folgenden Merkmale überein:

1) Nicht alle Zellen einer Gruppe bilden Sporen;

2) die Sporen einer Gruppe können successiv oder simultan entstehen;

3) nach der Ausbildung der Sporen sind dieselben durch eine helle durchsichtige Masse zusammengehalten.

Die Sporenentwickelung beschreibt Hauser folgendermaßen: „Zunächst findet eine deutliche Anschwellung einzelner Zellen statt, unter gleichzeitiger leichter Trübung des Zellprotoplasmas; allmählich kommt es zu einer Differenzierung des Zellinhaltes, indem der weitaus größere central gelegene Teil desselben sich zusammenzieht und heller wird, während die Peripherie in der Form einer dunkleren, membranähnlichen Kugelschale ersteren umgiebt. Wohl schon nach kurzer Zeit verwandelt sich der centrale Teil unter stetiger Zusammenschrumpfung in ein kleines, beiläufig 0,0006—0,0008 mm im Durchmesser haltendes, rundes, glänzendes, das Licht stark brechendes Körperchen, welches zunächst noch von dem peripheren Teil der Zelle, wie von einem dunkleren, nicht glänzenden, scharf begrenzten Hof umgeben erscheint. Schließlich aber scheint der periphere Teil der Zelle samt der Zellmembran durch Vergallertung sich aufzulösen, wodurch dann die Spore, bei welcher sich inzwischen eine bei der Tinktion sehr deutlich hervortretende Sporenmembran entwickelt hat, frei wird.“ Wesentlich stimmt diese Beschreibung der Sporenbildung mit den Vorgängen bei Sarcina ureae, da ja der central gelegene Teil des Zellinhaltes in der That heller wird, und nach kurzer Zeit sich in ein rundes, glänzendes, daß Licht starkbrechendes Körperchen verwandelt, das von einem Hof umgeben wird. Daß der Prozeß unter stetiger Zusammenschrumpfung des centralen Teiles stattfindet, habe ich bei Sarcina ureae nie beobachten können. Auch die fertige Spore war nicht kleiner als die Sporenvakuole. Meine Beobachtungen über die Sporenbildung lassen sich mit den Angaben von Arthur Meyer (16, p. 212) über die Sporenentwickelung bei Bacillus asterosporus vollständig in Uebereinstimmung bringen, welche sich auch auf kontinuierliche Beobachtungen der Sporenentwickelung beziehen, die ich nicht vornehmen konnte.

Ich beobachtete folgende Stadien der Sporenentwickelung:

1) Eine der jungen Spore entsprechende helle Stelle mit einem recht deutlichen Kerne;

2) die Sporenanlage, welche bei mittlerer und tieferer Einstellung fast ebenso dunkel oder etwas dunkler als das Cytoplasma war;

3) die Spore, welche stark lichtbrechend war, hatte eine Membran und war von einem deutlichen Hof umgeben;

4) die Sporangienmembran der in Wasser betrachteten Präparate war unsichtbar geworden, und die Sporangiengruppen wurden durch eine helle durchsichtige Masse zusammengehalten.

Das 3. Stadium entspricht dem Meyer'schen 3. und 4., da ich stark lichtbrechende Sporen ohne Membranen nicht beobachten konnte.

## Einfluß der Alkalien und Säuren auf die Sporenbildung.

### a) Alkali.

Um den Einfluß der Alkalien auf die Sporenbildung zu untersuchen, wurde eine 5-proz. Sodalösung bereitet, und in 4 Reagensgläser, deren jedes 5 ccm Dextroseagar enthielt, wurden je 3, 6, 9 bezw. 12 Tropfen der Lösung hinzugefügt und die Gläser nach der Impfung mit dem Sporenmaterial in den Brütschrank gestellt. Nach 3 Tagen hatten sich alle Kulturen stark entwickelt, und die Oberfläche des Agars war mit einem zusammenhängenden Belage überzogen. Nach 5 Tagen fand ich, daß in keiner Kultur Sporenbildung stattgefunden hatte, und daß der Belag schon etwas dünner war. Nach weiteren 5 Tagen waren die Kulturen

abgestorben. Der Versuch wurde weiter mit 1, 2, 3 Tropfen gemacht. Nach 3 Tagen fand ich in den Kulturen, zu welchen 1 und 2 Tropfen zugefügt waren, ziemlich reichlich Sporen. Dagegen enthielt die Kultur, zu welcher ich 3 Tropfen gegeben hatte, nur eine sehr geringe Anzahl Sporen. Nach 5 Tagen enthielten die Kulturen mit 1 und 2 Tropfen reichlich Sporen und waren aktiv beweglich, während diejenige mit 3 Tropfen nicht mehr Sporen wie nach 3 Tagen enthielt; auch die Bewegung der Individuen war kaum bemerkbar.

b) Säure.

Die Säure, welche angewendet wurde, war Phosphorsäure, und zwar eine $2^1/_2$-proz. Lösung. Für alle Versuche wurden 5 ccm Dextroseagar in jedes Röhrchen gefüllt.

Versuche.

Den Dextroseagarröhrchen wurden 0,5, 1, 2, 3 Tropfen vor der Impfung hinzugefügt. In allen 4 Fällen blieben die Röhrchen ganz steril.

Dann wurde der Säurezusatz in folgenden Mengenverhältnissen verwendet: 0,125, 0,2, 0,25, 0,3, 0,5, 1,0.

Die Kulturen, denen 0,125, 0,2 und 0,25 Tropfen der Säure zugesetzt waren, zeigten folgende besondere Eigenschaften:

1) Die Zahl der gebildeten Sporen war eine beträchtlich geringere als auf normalem Dextroseagar.

2) Häufig traten Zellen auf, welche kleiner als die Normalform waren.

3) Pakete von 6 und 8 Zellen kamen häufiger vor als auf normalem Dextroseagar.

4) Manchmal sah ich Involutionszellen von unregelmäßiger Gestalt.

Der Belag auf der Oberfläche war wie bei dem gewöhnlichen Dextroseagar, und die Bewegung der Zellen war nicht verlangsamt. Weiter wurde eine Probe von Kulturen angesetzt, denen 0,200, 0,10, 0,05 Tropfen Phosphorsäure zugesetzt waren.

Nach 7 Tagen fand ich, daß die 0,2-Kultur, wie oben erwähnt, sich entwickelt hatte, und daß die 0,1-Kultur im Bereiche des Kondenswassers ganz steril geblieben war, daß aber an der Spitze des Agars normale Entwickelung stattgefunden hatte.

Die Sporen hatten sich in der 0,05-Kultur wie in neutralen Agarkulturen gebildet, so daß die Entwickelung hier nicht gehindert war.

Aus diesen Versuchen ist zu schließen, daß der Zusatz von 0,1 Tropfen einer $2^1/_2$-proz. Phosphorsäure die Keimung, die vegetative Vermehrung und besonders die Sporenbildung von Sarcina ureae schon recht ungünstig beeinflußt. Neutraler Agar ist für die Kulturen am vorteilhaftesten. Von einer 5-proz. Sodalösung dürfen höchstens 2 Tropfen zu 5 ccm eines neutralen Dextroseagars zugesetzt werden, wenn die Sporenbildung nicht gehindert werden soll.

Diastasebildung.

Es wurde 3mal versucht, Diastase in dieser Species nachzuweisen. Die Versuche wurden mit 14 Tage alten Nährbouillonkulturen ausgeführt. Es wurde keine Diastase gefunden.

Ureasebildung.

Beijerinck (3, p. 53) giebt folgendes an: „Sie enthält ziemlich viel Urease und wirkt auf der Hefeureumplatte beinahe momentan. Ihr Spaltungsvermögen bezüglich Ureum ist jedoch nicht hoch, in 5 Tagen

konnte nur ein Titer von 90 ccm pro 100 ccm Flüssigkeit erreicht werden, welches etwa 3 Proz. umgewandeltem Ureum entspricht."

Wichtigste Merkmale der Species „Sarcina ureae".

Sporen kugelig, 1—$1^1/_3$ $\mu$ Durchmesser. Gewöhnlich sind die Sporen von Sporangienresten umgeben. Völlig isolierte Sporen selten.

Durchmesser der Spore und Sporangienreste 1,5—1,75 $\mu$; Sporenmembran relativ dick und mit 5 oder 6 schwachen Ecken versehen. Exine und Intine nicht zu unterscheiden.

Sarcina ureae entwickelt sich auf Dextroseagar, auf Agar ohne Dextrose, auf Zettnow'schem Spirillenagar, auf Mistdekoktagar und bildet auf diesen Substraten Sporen. Sie wächst am besten auf neutralem Nährboden.

In Nährbouillon, Urin und in Mistdekokt wächst sie stark, aber ohne Sporenbildung. Sie wächst in keiner der Nährlösungen I—XI.

Auf Agar bildet sich nach 2 Tagen ein weißgrauer Belag. Auf Gelatineplattenkulturen entwickeln sich nach 2 Tagen Kolonieen in Form von kleinen, grauen Pünktchen, die unter dem Mikroskope eine feinkörnige Struktur zeigen. Am 4. Tage sind die Pünktchen deutlicher und größer geworden. Die Konturen der unter der Oberfläche wachsenden Kolonieen sind gelappt, die derer, welche auf der Oberfläche wachsen, scharf. Nach 12—14 Tagen beginnt Verflüssigung der Gelatine. In Gelatinestichkulturen bemerkt man am 2. Tage längs des Stichkanales eine sehr schwache Entwickelung, an der Oberfläche eine etwas stärkere, welche eine grobkörnige Struktur zeigt. Nach weiteren 2 Tagen hat sich an der Oberfläche die Kolonie etwas weiter ausgebreitet. Am 10.—12. Tage beginnt eine langsame Verflüssigung der Gelatine.

Keimung nicht direkt beobachtet.

Oïdienzellen. Treten auf Dextroseagar bei 28° gewöhnlich als Diplo-, Tri- und Tetrakokken auf, ausnahmsweise in Form von Paketen von 6, 8 und mehr Kokken.

Geißeln. 4—6mal so lang als der Durchmesser einer Zelle. Jede Gruppe hat in 16—40 Stunden alten Kulturen normalerweise 1 Geißel. In 40 Stunden bis 6 Tage alten Kulturen variiert die Zahl von 1—13.

Beweglichkeit. In 16—30 Stunden alten Kulturen gering, kaum bemerkbar, in 40 Stunden alten Kulturen viel stärker. Die Beweglichkeit dauert fort, bis reife Sporen gebildet sind. In Nährlösungen ist die Beweglichkeit gewöhnlich stärker als auf festen Nährsubstraten.

Sporenbildung. Nach 50—60 Stunden hat jedes Sporangium eine Spore in seiner Mitte gebildet. Eine Speicherung von Glykogen oder Fett in den Sporangien ist nicht nachweisbar. Die Sporen werden eventuell durch einen Riß in der Sporangienwand frei. Sporangienwand und Sporangiencytoplasma zerfallen allmählich, bis sie, bei in Wasser betrachtetem Materiale, unsichtbar sind.

Die Tötungszeit für die Sporen beträgt bei 100° C: 3 Minuten +, 4 Minuten —; bei 80° C: 1,75 Stunden +, 2 Stunden —.

Ihres Sauerstoffbedürfnisses wegen sammeln sich die beweglichen Kokken an dem Rande des Deckglases an.

Die Species ist ein harnstoffspaltendes Bakterium und enthält ziemlich viel von dem Ferment Urease. Ihr Spaltungsvermögen ist jedoch nicht hoch, in 5 Tagen konnte Beijerinck nur 3 Proz. umgewandelten Harnstoff nachweisen.

Sie scheidet keine Diastase aus.

## Ueber Streptococcus tyrogenus (Henrici).

Streptococcus tyrogenus (Henrici. 1894. p. 50).

Eine etwas eingehendere Untersuchung irgend einer Streptococcus-Species war erwünscht, da bis jetzt so wenig über diese Gattung bekannt war. Streptococcus tyrogenus wurde seiner Größe wegen gewählt. Er ist schon von seinem Entdecker Henrici, jedoch hauptsächlich nur makroskopisch, untersucht worden.

Gelatineplattenkulturen. Die Kolonieen auf meinen Platten stimmten mit denjenigen, die Henrici beschrieben hat, überein. Die eingeschlossenen bildeten kleine weiße Körnchen, während die Kolonieen auf der Oberfläche runde, schmutzigweiße Häufchen darstellen. Anfangs erschienen die oberflächlich liegenden Kolonieen auch als granulierte Häufchen, deren körniges Aussehen verschwand, als sie größer wurden. Am 2. Tage waren die Kolonieen sichtbar, am 4. Tage hatten sie etwas zugenommen und dann wurden sie nicht mehr größer.

Gelatinestichkultur. Am 2. Tage traten längs des ganzen Stichkanales isolierte weiße Pünktchen auf. Auf der Oberfläche fand kein Wachstum statt. Am 4. Tage wurden die Pünktchen deutlicher sichtbar, so daß man einen weißen, regelmäßigen Streifen bis tief nach unten sah. Nach dieser Zeit fand keine weitere Veränderung statt. Diese Beschreibung stimmt mit derjenigen Henrici's überein.

Wachstum in den verschiedenen Nährflüssigkeiten.

Die Species wuchs in No. I und II der bei Gottheil (9, p. 432) angegebenen Nährlösungen, in den anderen nicht.

Nährlösung I. Nach 24 Stunden war die Flüssigkeit ganz trübe. Die Kultur bestand aus Uni- und Diplokokken und kurzen Ketten von 4–5 Kokken. Die Länge der Kokken variiert von 1 $\mu$ (Fig. 94a) bis 1,5 $\mu$ (Fig. 94b). Es ist klar, daß die in Fig. 94b dargestellte Zelle sich vor der Teilung gestreckt hatte. Alle Teilungsstadien wurden beobachtet. Die Bewegung war dieselbe, wie ich sie für die Sarcinen beschrieben habe. Nach 3 Tagen war die Flüssigkeit noch trüber geworden und reagierte stark sauer. Nach 5 Tagen war die Flüssigkeit klar, nur am Boden befand sich ein weißgraues Flöckchen. Obgleich Diplokokken häufig zu sehen waren, bestand die Kultur doch hauptsächlich aus großen unregelmäßigen Paketen mit zweigähnlichen Fortsätzen. Manchmal wurden auch Ketten von 10–12 Zellen beobachtet. In der folgenden Zeit fanden keine weiteren Veränderungen statt.

In Nährlösung II war das Wachstum ganz dasselbe wie in Nährlösung I. Die Bewegung war kaum wahrnehmbar. In einer 6 Tage alten Kultur waren die Zellen unbeweglich. Die Säurereaktion, das allmähliche Vorkommen von unregelmäßigen Paketen und die Trübung der Kultur waren ganz ähnlich den für Nährlösung I beschriebenen Vorgängen.

Außerdem wuchs die Species sehr gut in Nährlösung IIIa und weniger gut in Nährbouillon.

In Nährlösung IIIa waren die Zellen bedeutend größer als in den Nährlösungen I und II. Sie variieren von der Größe, welche in letzteren herrscht, bis zu der Größe, die in Fig. 95 und 96a dargestellt ist. Die Wachstumsbedingungen in Nährlösung IIIa waren sehr günstig, da Pakete und Ketten fehlten und ich nur Uni- und Diplokokken beobachtete. Auch war die Bewegung leichter wahrnehmbar. Die Trübung

der Flüssigkeit und die Säurereaktion waren wie bei den Nährlösungen I und II.

In Nährbouillon. Wie für Nährlösung I, nur war die Trübung und die Säurereaktion etwas schwächer als bei diesen.

Säurebildung. Die Säurebestimmung wurde in derselben Weise angeführt, wie es in der Gottheil'schen Arbeit (9, p. 462) beschrieben ist. Die titrimetrische Bestimmung habe ich mit $^1/_{10}$-Normalkalilauge ausgeführt. Als Indikator benutzte ich eine alkoholische Rosolsäurelösung 1 : 100. Zur Untersuchung setzte ich die Species in der neutralen Nährlösung I in Kölbchen an. Nachdem diese Kultur 1 Woche bei 28° C gestanden hatte, gebrauchte ich für 10 ccm der Lösung 2 ccm $^1/_{10}$-Normalkalilauge zur Neutralisation. Nachdem die Kultur 2 Wochen im Brütschranke gestanden hatte, waren 4,2 ccm $^1/_{10}$-Normallauge für 10 ccm der Lösung nötig.

Entwickelung auf Dextroseagar. Nach 20 Stunden befand sich auf der Oberfläche des Agars ein dünner durchsichtiger Belag. Die Kultur bestand hauptsächlich aus Diplokokken von der Größe der in Fig. 94a und 94b dargestellten, obgleich Ketten von 6–7 Kokken nicht selten zu sehen waren. Beinahe jede Zelle war im Begriff, sich zu teilen, so daß gestreckte Zellen (Fig. 94b) sehr häufig vorkamen. Die Kokken zeigten zitternde Bewegung und in manchen Fällen sah man auch Rotation. Nach 2 Tagen hatte der Agar wegen des starken anaëroben Wachstums dieser Species seine Durchsichtigkeit verloren und sah weiß und trübe aus. Das Kondenswasser reagierte stark sauer. Ketten von 3–5 Gliedern herrschten vor, obgleich Diplokokken auch vorhanden waren. Die Kokken waren verschieden groß, die größten so, wie es in Fig. 94a dargestellt ist. Es kam sehr oft vor, daß Kokken einer und derselben Kette verschieden groß waren. Von dieser Zeit ab war keine Veränderung zu bemerken, ausgenommen, daß die Ketten viel unregelmäßiger wurden, und daß man sehr oft Teilungswände sah, welche parallel zur Längsachse der Kette lagen, so daß also viele Verschiebungen stattgefunden hatten.

Wachstum auf Agar-ohne-Dextrose. Auf Agar[1])-ohne-Dextrose ist das Wachstum ganz anders als auf Dextroseagar. Die Kokken waren beinahe alle so groß, wie es in Fig. 96a dargestellt ist, obgleich auch kleinere zu beobachten waren (Fig. 96a–e). Die Bewegung dieser Zellen wurde hier sehr deutlich wahrgenommen und meine sämtlichen Geißelpräparate wurden von Agar-ohne-Dextrose-Kulturen angefertigt. Die Kultur bestand hauptsächlich aus Diplokokken, doch kamen auch Ketten von 3–6 Kokken vor. Pakete fehlten vollständig. Dreieckige Trikokken und viereckige Tetrakokken waren selten vorhanden. In meinen sämtlichen Kulturen auf Agar-ohne-Dextrose wuchs diese Species nur aërob.

Morphologie der Zellen. Die Größe der auf dextrosefreiem Agar erwachsenen Kokken variiert von 1–1,75 $\mu$. Die isolierten Kokken sind entweder rund oder in einer Richtung etwas verlängert. Wenn 2 oder mehr Kokken in einer Kette liegen, so findet man verschiedene Abweichungen von diesen Grundformen:

1) Sie sind rund, aber an den Berührungsstellen meist etwas abgeplattet.

2) Ausnahmsweise bilden die Kokken eines Diplococcus je eine Hemisphäre (Fig. 96e).

1) Auf Dextroseagar wuchs die Species stark anaërob.

3) Die größten Zellen sind selten kugelförmig oder ellipsoidisch, meist eiförmig (Fig. 96a). Letztere Form sieht man in Diplokokken (Fig. 96a) und gleichfalls in kurzen Ketten (Fig. 96c).

Die Verschiedenheit der Größe der Zellen beruht auf der ungleichen Teilung der Zellen. Es kommt sehr oft vor, daß die Teilungswand nicht in der Mitte, sondern einer Seite genähert entstanden ist, so daß die Tochterzellen ungleich groß sind (Fig. 96b). Auch muß Ungleichheit in der Größe stattfinden, wenn nur einzelne Zellen in einer Kette sich teilen, da in diesem Falle ausgewachsene Zellen neben jungen Zellen in einer Kette liegen müssen. Oft finden Verschiebungen statt, so daß die Teilungswände nicht immer senkrecht zur Längsachse der Kette liegen, sondern oft schräg und oft sogar parallel (Fig. 97a) zu dieser Achse. Wie vorher erwähnt, entstehen durch diese Verschiebungen aus den 3- und 4-gliedrigen Ketten Gebilde (Fig. 97b und 97c), durch welche der Anschein erwachsen könnte, als ob Teilung in 2 Richtungen des Raumes stattgefunden hätte. Ich habe die Zellen weiter mit den gewöhnlichen Reagentien behandelt. Am besten bewährten sich Methylenblau, Jodjodkalium und Karbolfuchsin. Mit allen diesen kann man, wie es auch bei den Sarcinen der Fall war, eine regelmäßige, tiefer färbbare, ziemlich dicke Membran nachweisen. Man muß aber darauf achten, daß nicht zu viel von dem betreffenden Farbstoffe benutzt wird, sonst wird die ganze Zelle gleichmäßig gefärbt (Fig. 98 mit Methylenblau, Fig. 99 mit Karbolfuchsin und Fig. 100 mit Jod). Wie es auch bei den Sarcinen der Fall war, ist die Membran zwischen zwei nebeneinander liegenden Zellen bedeutend dünner als an der Peripherie. Volutanskugeln, Fett und Glykogen kommen in den Zellen dieser Species nicht vor. Lange Ketten, wie es für sie von Henrici beschrieben ist, habe ich in meinen Kulturen nicht beobachten können. Die Geißeln dieser Species sind an anderer Stelle beschrieben worden.

Zellteilung. Die Beobachtungen wurden immer an Material gemacht, das dextrosefreien Kulturen entnommen wurde.

Es fragt sich zuerst, ob sich die Zelle vor oder nach der Bildung der Teilungswand streckt. Es ist charakteristisch, wie Migula es schon betont hat (22, p. 140), daß die Streptokokken sich zuerst strecken, ehe eine Teilungswand gebildet wird. In einer 24 Stunden alten Kultur kommen, wenn die Teilung ziemlich aktiv ist, ovale, gestreckte Zellen sehr häufig vor, und nicht ein einziges Mal habe ich eine ungestreckte mit Teilungswand versehene Zelle beobachten können. Die Teilungswände sind durch die Reagentien Methylenblau, Jodjodkalium und Karbolfuchsin zu erkennen, wenn man die Zellen sehr vorsichtig färbt. Auch bemerkt man, daß die größten Zellen, die in dextrosefreien Kulturen häufig vorkommen und die oft etwas länger als breit sind (Fig. 96a), sich noch etwas mehr verlängern, wenn sie im Begriffe sind, sich zu teilen (Fig. 96b).

Zweitens ist zu entscheiden, ob Einschnürung der Mutterzelle vor oder nach dem Vorkommen der Teilungswand eintritt. Eine eingeschnürte Zelle ohne Teilungswand habe auch ich nie beobachten können; eingeschnürte, mit Teilungswand versehene Zellen dagegen sind sehr häufig. Deshalb muß der Prozeß der Teilung so vor sich gehen, daß zuerst die Streckung, dann die Bildung einer Teilungswand und endlich die Einschnürung stattfindet.

Dann fragt sich weiter, wie weit die Einschnürung gehen kann, ehe die Teilungswand sich spaltet; wie in Fig. 94a und 98b nach den am

häufigsten vorkommenden Fällen dargestellt ist, kann ziemlich tiefe Einschnürung stattfinden, ehe Spaltung eintritt. Nur ausnahmsweise sieht man Zellen (Fig. 96e) mit Teilungsspalten ohne die geringste Einschnürung.

Der Prozeß der Teilung geht also anscheinend in ganz derselben Weise, wie bei den Gattungen Sarcina und Bacillus vor sich. Eine dünne Scheidewand trennt die Mutterzelle in 2 Tochterzellen. Diese Wand wird etwas breiter; dann spaltet sie sich (Fig. 96e und 99a). Wenn keine Einschnürung vor der Spaltung stattgefunden hat, dann findet sie nach der Spaltung statt.

## **Ueber Spirillum giganteum** (Migula. 1900. p. 1025). (Syn. Spirillum volutans [Kutscher. 1895. p. 58].)

Die Kultur stammte von der Originalkultur Kutscher's ab[1]) Die Beschreibung, welche Kutscher von der Species giebt, ist nur auf makroskopische Merkmale gegründet. Bei Migula ist die Beschreibung fast wörtlich aus Kutscher's Arbeit entnommen.

### I. Entwickelung auf Spirillenagarplatten.

Es wurden gewöhnliche Verdünnungen gemacht und die Platten in den Brütschrank (bei 28° C) gestellt. Bis zum 5. Tage wurde keine Entwickelung wahrgenommen. Nach dieser Zeit war die Oberfläche des Agars mit kleinen, grauen Kolonieen versehen, welche, mikroskopisch beobachtet, regelmäßig rund waren. Zwischen den Kolonieen sah man eine große Anzahl von kleinen Pünktchen. Die Zellen waren beinahe alle doppelt so lang als die normalen Zellen (siehe weiter unten), bestanden aus je 2—3 Windungen und waren sehr inhaltreich und beweglich. Nach 6 Tagen war ein Drittel der Oberfläche des Agars mit einem grauen Belage besetzt, und nach 7 Tagen war die ganze Oberfläche mit diesem Belage bedeckt. Nach 17 Tagen waren die Zellen viel kürzer, ohne Bewegung und sehr häufig ohne Zellinhalt.

### II. Fleischwassergelatine-Stichkultur.

Zusammensetzung wie bei Kutscher angegeben, nur wurde soviel Wasser zugethan, daß die Gelatine bei Zimmertemperatur fest blieb. 5 Tage nach der Impfung sah man einen weißlichen Belag, der bis zum Glasrande reichte und 2—3 mm tief war. Von dem Belage bis nach unten blieb die Kultur ganz steril. Die Zellen waren ganz gerade, unbeweglich und inhaltsreich. Nach 17 Tagen hatte keine weitere Veränderung stattgefunden. Diese Beschreibung stimmt mit derjenigen von Kutscher nur in der Bildung des weißlichen Belages auf der Oberfläche der Gelatine überein.

### III. Fleischwasseragarplatten.

Der Agar wurde nach der Angabe Kutscher's hergestellt. Das Wachstum der Species auf diesem Nährsubstrat war das von Kutscher

---

1) Herr Dr. Kutscher hat die Species als Spirillum volutans bezeichnet; Herr Grimme (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. 1902) hat mit dem gleichen Materiale wie ich gearbeitet, in seiner Arbeit die Species aber, nach Kutscher, Spirillum volutans genannt. Das Material verdanken wir der Freundlichkeit des Herrn Professor Zettnow.

(13, p. 58) angegebene; die Kolonieen waren wetzsteinförmig und gekörnt.

IV. Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen.

Spirillum giganteum wuchs nicht in den Nährlösungen II, III, IV, V, V$\alpha$, V$\beta$, V$\gamma$, V$\delta$, VI, VII, VIII, IX, X, XI. Dagegen wuchs die Species in den folgenden Nährlösungen.

Nährlösung I. Nach 3 Tagen war die Flüssigkeit sehr trübe geworden. Die Individuen (Fig. 1) waren bedeutend dünner als in normalen Fällen (Fig. 3). Volutans-Kugeln waren nicht vorhanden, Fett aber reichlich. Bewegung sehr lebhaft. Lange Fäden wurden nicht wahrgenommen. Nach 4 Tagen hatten einzelne Zellen wenige Volutans-Kugeln entwickelt. Die Kultur war sonst unverändert. Nach 6 Tagen kamen Volutans-Kugeln häufiger vor, 2—5 von verschiedener Größe in jeder Zelle. Am Boden wurde jetzt eine 2 mm hohe, weiße Schicht gebildet.

Neutralisiertes Pferdefleischwasser. Anfangs wuchs die Species gut. Nach 1 Tage war die Flüssigkeit ganz trübe geworden, aber die Zellen waren sehr klein, gerade und unbeweglich. Nur eine kleine Anzahl von Zellen war von normaler Größe, aber entweder unbeweglich oder kaum beweglich. Am Boden befand sich eine grau-weiße Schicht. Am 2. Tage waren keine lebenden Zellen mehr zu finden. Wenn man das Fleischwasser mit der 4fachen Menge Wasser verdünnte, wuchs die Species regelmäßig. Nach 3 Tagen war die verdünnte Flüssigkeit trübe. Die Zellen waren kleiner als die normalen und von verschiedener Größe (Fig. 2). Volutans-Kugeln und Fett waren reichlich vorhanden, Zellteilung war ziemlich häufig, und die Bewegung eine sehr lebhafte. Die Zellen waren oft ganz gerade, und nicht selten sah man Zellen mit großen, leeren Räumen (Fig. 2$\beta$). Nach 5 Tagen fand sich eine grau-weiße Schicht am Boden. Nach 7 Tagen waren die meisten Individuen entweder unbeweglich oder kaum beweglich.

Nährbouillon. Für unsere Species ist diese Nährflüssigkeit die beste. Nach 3 Tagen war sie ganz trübe und alle Zellen waren von normaler Dicke (Fig. 3). Volutans-Kugeln mit Fett waren reichlich vorhanden und die Individuen sehr beweglich. Auch in dieser Flüssigkeit fanden sich häufig inhaltsreiche Zellen von normaler Dicke mit 2—3 Windungen (Fig. 12b, c), was nur unter sehr günstigen Bedingungen vorkommt. Nach 4 Tagen fluorescierte die Oberfläche der Flüssigkeit etwas und am Boden befand sich eine grau-weiße Schicht. Bewegung und Inhalt der Individuen waren unverändert. Nach 7 Tagen hatte die Kultur schon angefangen zu degenerieren, indem die Zellen sich langsamer bewegten, und die Quantität von Volutans-Kugeln und Fett abgenommen hatte. Die Schicht am Boden der Flüssigkeit war jetzt 3 mm hoch. Von jetzt an zeigte die Kultur dieselben Erscheinungen, welche unten für Dextroseagarkulturen beschrieben sind. Im Gegensatz zu den anderen Nährflüssigkeiten bleibt die Dicke der Zellen immer normal. Fig. 3a stellt Stäbchen von der häufigsten Länge dar. Die Länge der am häufigsten auftretenden Individuen in dieser Flüssigkeit schwankte zwischen der der Fig. 3a und Fig. 3c.

V. Veränderung einer Kultur mit der Zeit.

Um die Veränderungen, die in einer Kultur stattfinden, wenn die Nährstoffe nach und nach verbraucht werden, zu untersuchen, wurde

eine Spirillenagarkultur täglich beobachtet. Die Kultur ließ ich im Brutschranke (bei 28° C) wachsen.

A. Veränderung in der Größe und der Form der Zelle.

Nach 1 Tage war die Kultur schon stark gewachsen und hatte auch einen weißlich-grauen Belag gebildet. Die Individuen bildeten am häufigsten entweder einen Kreisbogen oder zwei zu einem **S** vereinigte Bogen. Außerdem sah man andere Individuen, die kürzer waren, und noch andere, die fast gerade waren. In Fig. 4 ist die Länge der verschiedenen Individuen schematisch dargestellt. In diesen schematischen Figuren bedeutet eine gerade Linie, daß an diesem Punkte eine Zelle im Begriffe ist, sich zu teilen. Eine gekrümmte Linie bedeutet, daß an diesem Punkte die Teilung beendigt ist, daß aber die sich teilenden Zellen noch zusammenhängen [siehe A. Meyer (19). 1901. p. 59]. Die Dicke dieser Zellen ist in allen Fällen gleich (Fig. 4$\alpha$). Teilung fand man in vielen Individuen, und nur sehr ausnahmsweise war ein Individuum, welches aus 2 Windungen bestand, nicht im Begriffe, sich zu teilen. Individuen, die aus mehreren Windungen bestanden, waren nicht vorhanden. Die Dicke von 1,5 $\mu$ (Fig. 4$\alpha$) kann man als die normale bezeichnen, da die Zellen stets diese Dicke haben, wenn man die Species unter günstigen Bedingungen kultiviert.

Am 2. und 3. Tage war keine wahrnehmbare Veränderung in der Größe und Form der Individuen zu beobachten, ausgenommen, daß man jetzt ausnahmsweise einzellige Individuen von 4—5 Windungen fand. Das Kondenswasser war schon trübe geworden, und am Boden dieses Wassers befand sich eine weiße Schicht.

Nach 4 Tagen waren die sehr kurzen Individuen am häufigsten vorhanden (Fig. 3a). Außerdem sah man ziemlich häufig Individuen mit 4—5 Windungen, die ausnahmsweise mit Teilungswänden versehen waren. Die Kultur war schon etwas degeneriert, indem entweder sehr kurze oder sehr lange Individuen mit flachen Windungen vorherrschten. Andere Zeichen der Degeneration werden in VII. geschildert.

Nach 9 Tagen war die Dicke, Größe und Form der Individuen nicht wesentlich verändert, aber es waren in jedem Präparate einzelne tote oder im Absterben begriffene unbewegliche Zellen zu sehen, die ganz blaß aussahen und inhaltsarm waren; Individuen mit Teilungswänden waren nur ganz selten zu finden.

Die Kultur wurde auch nach 15, 21, 26, 33 und 46 Tagen untersucht. Die Anzahl der unbeweglichen und inhaltslosen Zellen hatte beträchtlich zugenommen. Nach 15 Tagen war nur noch die Hälfte beweglich, und nach 26 Tagen nur 1 Individuum in jedem Gesichtsfelde. Letzteres war fast immer kurz und etwas angeschwollen, selten größer und beweglich. Nach 33 und 46 Tagen war die Anzahl der beweglichen Zellen noch geringer. Die Kultur blieb solange lebend, als noch solche bewegliche Zellen vorhanden waren. Einmal fanden sich noch in einer 10 Wochen alten Kultur lebende Zellen vor.

B. Inhaltsveränderungen.

Die Veränderung, die in der Quantiät der Volutans-Kugeln und des Fettes stattfand, wurde auch untersucht. Diese Untersuchung gelang am besten mittels Trockenpräparaten, die mit Methylenblau (1 + 10) gefärbt wurden, wobei sich die Volutans-Kugeln tief blau färbten, die Fetttropfen sich dagegen nicht färbten, aber ihres starken Lichtbrechungsvermögens wegen leicht zu erkennen waren. Nach 2 Tagen enthielten

die meisten Zellen je 1—3 Volutans-Kugeln und 1—3 Fetttropfen, manchmal aber war eine kleinere Anzahl vorhanden (Fig. 5). Die Quantität von Volutans-Kugeln und Fett nahm bis zum 4. Tage zu. Von jetzt an fingen beide an, abzunehmen. Nach 9 Tagen hatten schon viele Individuen nur 1—2 Kugeln von jeder Sorte, und manche waren schon ganz leer. Nach 15 Tagen, wo nur noch ungefähr die Hälfte beweglich waren, waren die Volutans-Kugeln und das Fett großenteils verschwunden. Entweder enthielten die meisten unbeweglichen Zellen, die zugleich die größeren waren, keine Volutans-Kugeln und Fett mehr oder nur noch sehr geringe Mengen. Wenn zu einem nicht angetrockneten Präparate Methylenblau (verdünnt) allmählich seitwärts zugefügt wurde, so verloren die lebenden Zellen ihre Bewegung nicht, waren aber gefärbt. Man sah, daß alle lebenden Individuen Volutans-Kugeln hatten. Viele von diesen hatten auch Fetttropfen. Gewöhnlich hatte jede kürzere lebende Zelle eine große Kugel (Fig. 10, 11). Es ist danach sicher, daß nur diese kleinen, mit Reservestoffen gefüllt bleibenden, kurzen Stäbchen, diejenigen sind, welche sich in der Kultur am Leben erhalten.

C. Veränderung in der Bewegung.

Die Bewegung hatte schon nach 2 Tagen ihr Maximum erreicht. Sie war bedeutend schneller wie diejenige der Species aller anderen Gattungen (Bacillus, Sarcina, Pseudomonas, Streptococcus, Micrococcus), die ich untersucht habe. Außer der bekannten korkzieherartigen Bewegung sah man auch sehr oft

1) lebhafte zitternde Bewegung ohne Vorwärtsbewegung,

2) lebhafte zitternde Vorwärtsbewegung ohne korkzieherförmige Bewegung,

3) ausnahmsweise auch Kreisbewegung in einer horizontalen Ebene.

Plötzliche spontane Veränderungen in der Richtung der Bewegung, die man bei den Bacillen so oft sieht, habe ich nie wahrgenommen, ebensowenig die Rotationsbewegungen der Sarcinen. In dieser Kultur hatte das Maximum der Schnelligkeit bis zum 9. Tage angehalten; letzteres kann jedoch bei verschiedenen Kulturen kürzer oder länger andauern. Nach 15 Tagen hatte eine große Veränderung stattgefunden. Ungefähr die Hälfte der Individuen war unbeweglich und die anderen bewegten sich langsam, mit Ausnahme der kleinen, geschwollenen Individuen, die noch die maximale Geschwindigkeit besaßen.

VI. Die Folge der fortgesetzten Uebertragungen.

Wurden die Zellen jeden Tag auf neuen Spirillenagar übergeimpft, so hatten nach 8—10 Uebertragungen die folgenden Veränderungen stattgefunden:

1) Die Individuen bildeten fast nur zwei zu einem **S** vereinigte Bogen.

2) Die Zellen waren vollgestopft mit Volutans-Kugeln und Fetttropfen.

3) Die Schnelligkeit der Bewegung wurde eine maximale. Die Individuen waren so lebhaft beweglich, daß man ihre Konturen kaum wahrnehmen konnte.

4) Die Schnelligkeit des Wachstums nahm zu. Als ich von solchen Kulturen auf Spirillenagar abgeimpft hatte, war die Kultur nach 6 Stunden so stark gewachsen, wie sonst erst nach 16 Stunden.

## VII. Morphologie der Zelle.

Die spiraligen oder geraden Individuen zeigten in Wasser nur eine Anzahl von stark lichtbrechenden Kugeln. Die Membran war nicht wahrnehmbar. Die stark lichtbrechenden Kugeln waren entweder Volutans-Kugeln oder Fetttropfen, die, in Wasser betrachtet, kaum voneinander zu unterscheiden waren. Mit Methylenblau wurden Protoplasma und Membran gleich gefärbt, die Volutans-Kugeln wurden tiefer blau gefärbt als die ersteren Gebilde, das Fett wurde gar nicht gefärbt. Gewöhnlich schwollen die Volutans-Kugeln etwas an, und wenn sie ziemlich groß waren, erschien der centrale Teil nicht blau, sondern purpurrot (Fig. 6, 10a, 11) (siehe Grimme, p. 39). Wenn ein gefärbtes Trockenpräparat mit 5-proz. $H_2SO_4$ behandelt wurde (siehe Grimme, p. 41), so sah man in den Zellen leere Räume, wo vorher die Volutans-Kugeln gelegen hatten, und wenn ich nun dem Präparate Methylenblau nochmals seitlich zufließen ließ, konnte ich das Hineindringen des Farbstoffes in die leeren Räume (Fig. 7) beobachten. Das Fett dagegen blieb ungefärbt und ungelöst.

In Geißelpräparaten, deren Zellen ich mit verdünnter Essigsäure entfärbt hatte und dann mit Methylenblau behandelte, konnte ich die dunkler gefärbte Membran von dem heller gefärbten Plasma (Fig. 26a) unterscheiden. Wenn man lebendes Material mit sehr verdünntem Fuchsin behandelte, wurde die Membran zuerst dunkler gefärbt als das Plasma, bald aber waren beide gleich gefärbt. Das Fett blieb farblos, dagegen wurden die Volutans-Kugeln tiefrot (Fig. 8b). Manchmal wurde das Plasma abgehoben, so daß die Membran deutlich sichtbar war.

Verdünntes Karbolfuchsin färbte die Membran sofort dunkelrot, fast schwarz, das Fett gar nicht, das Plasma hellrot und die Volutans-Kugeln dunkelrot (siehe Grimme, p. 40). Das Fett erschien öfter wegen des überliegenden Plasmas sehr schwach gefärbt. Mit Chlorzinkjod behandelt, zogen sich die Zellen stark zusammen, das Fett aber blieb unverändert, so daß man nur eine zusammengeschrumpfte Masse mit hervortretenden Fetttropfen sah.

Das Fett kann mit Sudanlösung (A. Meyer, 1899. p. 434) oder Gelblösung (A. Meyer, 1899. p. 434) gefärbt werden, am besten mit ersterer. Wenn man die lebenden Zellen mit Sudan behandete, konnte man die Membran von dem Plasma manchmal unterscheiden (Fig. 9), obgleich sie ungefärbt blieb. Wenn dem im Wasser liegenden Material Bismarckbraun zugesetzt wurde, färbten sich anfangs nur die Volutans-Kugeln. Wenn man mehr von diesem Farbstoffe zufließen ließ, färbten sich auch die Membran und das Plasma. Das Fett blieb farblos. Wenn man zu einem Trockenpräparate Bismarckbraun seitlich zugab, erschienen die Volutans-Kugeln bei tieferer Einstellung schwarzbraun, das Plasma und die Membran schwach braun. Bei Entfärbung mit 80-proz. Alkohol wurden die Membran und das Plasma gleich entfärbt und waren infolgedessen nicht voneinander zu unterscheiden; die Volutans-Kugeln waren nach einer halben Stunde noch nicht vollständig entfärbt. Wurde ein Geißelpräparat mit Essigsäure entfärbt und dann mit Bismarckbraun behandelt, so konnte man die Membran von dem Plasma unterscheiden.

In allen Geißelpräparaten, die nicht zu stark gebeizt oder gefärbt waren, hatte sich die Membran dunkler gefärbt als das Cytoplasma. Wenn aber das Präparat 5 Minuten oder länger gebeizt oder 6—8 Minuten mit

Säureviolett behandelt wurde, dann waren die Zellen gewöhnlich gleichmäßig gefärbt. In allen Geißelpräparaten waren keine Volutans-Kugeln zu erkennen, dagegen die Fetttropfen entweder als isolierte, hellere, runde Räume (Fig. 17) oder als eine unregelmäßige Alveolärstruktur (Fig. 26 b) zu sehen. Sehr oft sah man in den Zellen der Geißelpräparate 1—4 runde, schwarze Körper (Fig. 17—19). Es waren Ausscheidungsprodukte der Farblösungen; ich konnte durch Entfärbung und nachherige Färbung mit Methylenblau nachweisen, daß sie weder Volutans-Kugeln noch Fetttropfen waren.

Es wurde versucht, die Membran von dem Plasma mittels Eau de Javelle zu unterscheiden. Das Material wurde in einen Tropfen eines Gemischs von 1 Teil Wasser und 2 Teilen Eau de Javelle gebracht. Nach 5 Minuten waren die Membran und das Plasma vollständig gelöst. Während dieser 5 Minuten wurde ein bestimmtes Individuum kontinuierlich beobachtet, aber eine Unterscheidung der Membran und des Plasmas war nicht möglich.

Ich konnte den Kern nicht nachweisen. Mittels der Meyer'schen Formolfuchsinmethode wurden auch die Volutans-Kugeln ebenso schnell und tief wie die Kerne bei Bac. asterosporus und Sarcina ureae gefärbt, so daß man nie sicher sagen konnte, welches Volutans-Kugeln und welches Kerne waren. Ich sah verzweigte Zellen in Kulturen von verschiedenem Alter. Die meisten waren tot und sahen ganz blaß aus (Fig. 29, 34). Andere dagegen waren sehr inhaltsreich und lebend (Fig. 20, 28).

Plasmolyseversuche. Die Zellen wurden mit 3-proz. $KNO_3$-Lösung plasmolysiert. An den Stellen, wo sich das Plasma von der Membran zurückgezogen hatte, war die Membran zu erkennen (Fig. 36 a und b), und noch deutlicher, wenn die plasmolysierten Zellen schwach mit Karbolfuchsin behandelt wurden (Fig. 36 c).

Aus diesen und einzelnen späteren Beobachtungen geht hervor, daß in der That eine dicke Membran bei Spirillum giganteum vorhanden ist, die sich oft abhebt (Fig. 26c) und selbst zerrissen werden kann (Fig. 13); sie läßt sich mit Karbolfuchsin in Geißelpräparaten und an mit Essigsäure entfärbten Geißelpräparaten, mit Bismarckbraun, Methylenblau und Safranin nachweisen. Die Angaben Zettnow's (36, p. 87—92) sind also unrichtig. Außer diesen Gründen kann man noch hinzufügen, daß die Individuen in alten Kulturen, in denen die Protoplasten gelöst waren, immer noch die Membran besaßen, wie man bei Behandlung mit Karbolfuchsin nachweisen konnten.

Die Zelle von Spirillum giganteum besteht also aus Membran und Plasma, in welches Volutanskugeln und Fetttropfen eingeschlossen sind. Die Struktur der Zelle ist demnach die für die Eubakteriaceen typische.

Bütschli (1902. p. 50—53) hat in neuerer Zeit versucht, seine Theorie über die Struktur der Bakterienzelle, die jetzt wohl, seit der genaueren Untersuchung Meyer's (1897), nur in die Geschichte der Bakteriologie gehört, wieder zum Leben zu bringen. Seine „roten Körnchen" sind nichts anderes als Volutans-Kugeln, die sich bekanntlich (siehe Grimme, p. 40) mit Delafield'schem Hämatoxylin und Gentianaviolett färben, und sein Centralkörper ist der ganz gleichmäßig gefärbte Bakterienkörper. Die „Alveolar"-Struktur ist wohl durch das Vorhandensein vieler Fetttropfen in der Zelle verursacht, welche oft in getrockneten und gefärbten Präparaten dieser Species, die in Fig. 4b (die

schwächer gefärbte Zeichnung) bei Bütschli abgebildete Erscheinungen liefern. Bütschli's Fig. 4b stellt wahrscheinlich nichts anderes als 2 Individuen dar, von denen das eine jugendlich und fettarm, und infolgedessen tief gefärbt ist, das andere dagegen gealtert und in Lösung begriffen, aber noch fettreich ist.

## VIII. Die Geißeln.

Die Geißeln von Spirillum giganteum sind bekanntermaßen polar, ziemlich lang und etwas gebogen. Kutscher (13, p. 58) hat bis zu 8 zu einem endständigen Büschel vereinigte Geißeln beschrieben.

Nach folgendem Verfahren gelang die Geißelfärbung am besten:

Fixierung 5 Minuten bei 30° C,
Beize $3^1/_2$—$4^1/_2$ Minuten bei Zimmertemperatur,
Säureviolett 5 Minuten ohne Erhitzung.

Die Geißeln färben sich auch mit Karbolfuchsin (Fig. 26c) und Methylenblau (Fig. 26a) leicht.

Die Anzahl der abgeworfenen Geißeln war bei diesem Verfahren sehr klein. Ich fand manchmal ungefähr 30 zu einem endständigen Büschel vereinigte Geißeln. Sie waren dick und in dem Geißelpräparate (Fig. 16) entweder schwach gekrümmt oder mehrfach geschlängelt. Die Dicke der Geißeln war größer als diejenige der Geißeln anderer Gattungen (Bacillus, Pseudomonas, Sarcina, Micrococcus, Streptococcus), die ich untersucht habe. Sehr häufig waren einige Geißeln anscheinend bedeutend dicker als die übrigen; es waren dieses wohl mehrere verflochtene Geißeln. Solche Geißelzöpfe konnte man sehr oft ohne weiteres sehen, wenn die Zellen ohne Beize nur mit Karbolfuchsin behandelt wurden.

Der Zusammenhang der Geißeln mit dem Cytoplasma.

Trenkmann (1889. p. 389) behauptete auf Grund weniger, zweifelhafter Beobachtungen, daß die Geißeln feine Fortsätze des Protoplasten seien, die durch Löcher in der Membran hervorwachsen. Zettnow (1891. p. 690) behauptete, daß die Geißeln von der Hülle entspringen und nicht mit dem kontrahierten Protoplasma zusammenhängen.

Fischer (1895) fand, daß die Geißeln Teile des Protoplasten sind. Er sagt: (6, p. 130): „Als Resultat dieses Kapitels ergiebt sich, daß die Geißeln der Bakterien, genau wie die Geißeln der Flagellaten, die Cilien der Infusorien, die Härchen des Flimmerepitheliums, zwar Teile des Protoplasten sind, mit diesem aber in keinem engen morphologischen Zusammenhange stehen und auch physiologisch ziemlich selbständig sind. Die Fähigkeit der Bewegung und Kontraktion wohnt den Geißeln selbst inne, ebenso eine gewisse Reizbarkeit, die bald eine Beschleunigung der Bewegung, bald einen Starrezustand herbeiführt. Gleichwohl sind die Geißeln nicht vollständig unabhängig vom Protoplasten, ohne dessen Berührung die Bewegung bald erlischt. Selbst ein gewisser morphologischer Zusammenhang dürfte nach den plasmolysierten Versuchen nicht ausgeschlossen sein. Leblose Fortsätze der Haut sind die Geißeln ebensowenig wie pseudopodienähnliche Ausläufer des Protoplasten, die nach Belieben herausgestreckt und eingezogen werden können.“ In Fischer's „Vorlesungen über Bakterien“ (p. 15) wird der Zusammenhang der Geißeln mit dem Cytoplasma als eine Thatsache dargestellt. Er sagt: „Sie (die Geißeln) erscheinen als ziemlich selbständige Organe, die natürlich die Betriebskraft für ihre Bewegungen

vom Protoplasmakörper empfangen, mit dem sie durch feine Löcher der Haut verbunden sind.“

Migula (1897, p. 117) nimmt an, daß die Haut lebendig sei, und daß die Geißeln unmittelar von ihr ausgehen. Die Unrichtigkeit der Gründe, welche Migula anführt, ist von Arthur Meyer (1899, p. 130) nachgewiesen.

Ich habe in folgender Weise zeigen können, daß die Geißeln in direktem Zusammenhange mit dem Cytoplasma stehen. Das Deckglas, auf welchem das Material, von einer 2—3 Tage alten Spirillenagarkultur entnommen, aufgestrichen war, wurde bei 30° C 5 Minuten lang fixiert, dann $3^1/_2$—4 Minuten gebeizt. Nach Abspülung mit Wasser wurde das Präparat nach Gram gefärbt. Das Anilingentianviolett ließ ich 5 Minuten lang bei Zimmertemperatur einwirken, dann wurde das Deckglas zuerst 2 Minuten lang in Jodjodkalium und dann 1 Minute lang in absoluten Alkohol gelegt. Die Membran war nun sehr tief, der Inhalt der Zelle und die Geißeln waren bedeutend schwächer und gleich stark gefärbt. An der Stelle, an der die Geißeln saßen, war die Membran bei mittlerer Einstellung bedeutend heller. Fig. 5a und 25a stellen einige solche Bilder dar. Wenn ein solches Präparat mit Karbolfuchsin nachgefärbt wurde, so waren die Erscheinungen noch besser zu sehen, weil die Membran mit diesem Farbstoff sehr stark gefärbt wurde und besonders weil das Plasma stark anschwoll. Man konnte die fast schwarz gefärbte Membran ganz deutlich von dem rot gefärbten Inhalte und den Geißeln unterscheiden und das Ausgehen der Geißeln von dem Protoplasma wahrnehmen. In Fig. 13 war durch die Schwellung des Protoplasten die Membran an den Enden aufgerissen.

Entwickelung der Geißeln. Es wurde oft übertragenes Material benutzt. Man sah häufig in Geißelpräparaten von solchen Kulturen kurze Geißelbüschel verschiedener Länge an den Enden des Stäbchens (Fig. 21—25). Die Geißeln solcher Büschel waren dabei stets gleich lang. Es kamen relativ lange Stäbchen mit kurzen Geißeln und relativ kurze Stäbchen mit langen Geißeln vor. Daraus scheint hervorzugehen, daß die Geißeln bei kürzeren oder längeren Individuen neu entstehen können, indem sie aus dem Cytoplasma hervorwachsen, sich nur relativ langsam verlängernd. Da kein Zusammenhang zwischen der Größe der Stäbchen und der Geißeln besteht, so kann man auch nicht aus der Größe der Stäbchen auf das Alter der Geißeln schließen. Fischer hat das gethan (6, p. 103), meiner Meinung nach nicht mit Recht. Seine Figuren stimmen auch mit seinen Angaben nicht überein (siehe Fig. 5, Taf. I).

Beziehung der Geißeln zur Teilung. Ich habe bei den sorgfältig angefertigten Geißelpräparaten nur an den Enden von Individuen Geißeln gesehen (Fig. 25). Daraus muß ich schließen, daß bei Spirillum giganteum höchst wahrscheinlich erst nach der vollständigen Trennung der Tochterindividuen die Geißeln entwickelt werden. Loeffler (14, 1887. p. 217) hat bei einem Exemplar mit 3 Schraubengängen ein seitliches Geißelbüschel wahrgenommen. Solche habe ich auch manchmal beobachtet, aber sie schienen mir nur durch Anhaften abgeworfener Geißeln entstanden zu sein. Bei Spirillum undula hat Fischer (6, 1895. p. 103) Aehnliches beobachtet. Er sagt: „Ich habe eine schlangenartige, 5-gliederige Kette gefunden, die an ihren beiden Enden und an drei Krümmungsstellen Geißelbüschel trug.“ Bei Spir. giganteum ist es mir, wie gesagt, nie gelungen, solche seitlich be-

geißelte Ketten wahrzunehmen. In Fig. 25 ist eine 6-gliederige Kette dargestellt, die an beiden Enden ein Geißelbüschel trug, und obgleich einige von den Gliedern voneinander vollständig getrennt waren und das Präparat sehr schön gelungen war, hatten die mittleren Glieder keine Geißeln. Vielleicht hat Fischer nur zufällig anhaftende abgeworfene Geißeln beobachtet.

Veränderung der Geißeln mit der Zeit. Wie in dem Kapitel VI beschrieben ist, war in einer 15 Tage alten Kultur nur ungefähr die Hälfte der Individuen beweglich, während nach der Geißelfärbung die meisten Individuen Geißeln zeigten. In einer 46 Tage alten Kultur waren die meisten Individuen unbeweglich und zeigten doch nach der Geißelfärbung Geißeln. Danach behalten die Individuen die Geißeln annähernd bis zum Tode.

## IX. Zellteilung.

Eine 1 Tag alte, oft abgeimpfte Spirillenagarkultur wurde als Beobachtungsmaterial gewählt, weil zu dieser Zeit beinahe jede Zelle im Begriffe war, sich zu teilen. Das nicht angetrocknete Material wurde entweder in Wasser oder in Gelatine untersucht oder es wurde angetrocknetes Material mit Reagentien behandelt. Das anscheinend erste Stadium der Teilung wird in Fig. 27a dargestellt. Die Volutans-Kugeln und Fetttropfen, die wegen der fortgesetzten Uebertragungen sehr zahlreich und klein waren, fanden sich im mittleren Teile nicht mehr vor. Die Länge dieses mittleren Teiles war verschieden groß. Eine Einschnürung hatte noch nicht stattgefunden. In einem zweiten Zustande, der anscheinend der darauffolgende ist, sah man, daß der die Volutans-Kugeln und das Fett enthaltende Teil sich abgerundet hatte, während die dazwischen liegende Brücke fast unverändert geblieben war (Fig. 27b). In einem dritten Stadium schnürt sich der mittlere Teil ein (Fig. 27c). Zwischen dem Zustande, der in Fig. 27c, und dem Zustande, der in Fig. 27d dargestellt ist, waren Uebergangsstadien zu beobachten, so daß es klar ist, daß dieser Teil immer enger und enger wird, bis er, wie in Fig. 27e dargestellt ist, unsichtbar wird, obgleich die beiden Tochterzellen immer noch zusammenhängen. Der Zusammenhang wird allmählich gelöst und die Tochterzellen werden frei. So viel konnte also beobachtet werden, wenn die Zellen in Wasser oder in Gelatine untersucht wurden. In angetrockneten Präparaten waren die ersten beiden Stadien nicht zu sehen. Vom 3. Stadium befanden sich zahlreiche Individuen vor. Fig. 14 stellt ein solches, welches mit Methylenblau gefärbt war, dar. Die beiden Zellhälften sind von dem mittleren Teile durch die tiefere Farbe und die Anwesenheit von Volutans-Kugeln abgesetzt. Nach Entfärbung und nachfolgender Behandlung mit Karbolfuchsin gab dieselbe Zelle die Erscheinung, welche in Fig. 15 dargestellt ist. Man sieht eine dunkelrot gefärbte Membran die ganze Zelle umgeben. Die Membran bleibt also bis zu diesem Zustande erhalten.

(Schluß folgt.)

---

*Nachdruck verboten.*

# Studien über Wasserbakterien des Leitungswassers der Stadt Buenos Aires, mit besonderer Berücksichtigung der Pigmentbakterien.

[Ausgeführt im Auftrage und unter Kontrolle von Dr. O. Voges, Direktor des Laboratoriums des nationalen Departements für Hygiene.]

Von **Domiciano Fernandez,** Praktikant des Laboratoriums.

(Schluß.)

No. 13. Citronengelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Zwischen 16–20° entwickeln sich nach 48 Stunden kleine, rundliche, leichtgelbe Kolonieen. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen diese Kolonieen rund, mit glatten Rändern und gleichmäßigem Inhalt; die Farbe ist intensiv gelb.

Gelatinestichkultur: Entwickelung findet längs des ganzen Impfstiches statt. Pigmentbildung nur an der Oberfläche; die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: Bei Zimmertemperatur findet auf schräg erstarrten Agarkulturen sehr reichliches Wachstum statt, unter Bildung eines citronengelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Dieselbe wird nach 24 Stunden gleichmäßig getrübt, Häutchenbildung wird nicht beobachtet.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt, die Reaktion der Bouillon wird nicht wesentlich verändert.

Milch: Die Bacillen entwickeln sich in Milch, ohne dieselbe zu koagulieren, die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffel: Auf Kartoffeln findet kein Wachstum statt.

1-proz. Peptonwasser: Es findet keine Entwickelung der Bakterien statt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Die Bakterien entwickeln sich nicht.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie im Vorhergehenden.

Indol: Indol wird nicht gebildet.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob, verliert in letzterem Falle seine Farbe.

Chemische Reaktionen: Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Terpentin und Benzin, auch findet keinerlei Farbenveränderung statt bei Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 14. Citronengelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, unbeweglich im hängenden Tropfen.

Gelatineplatten: Zwischen 18—25° entwickeln sich nach 48 Stunden kleine, mattgelbe Kolonieen von rundlicher Form, welche die Gelatine verflüssigen. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die oberflächlichen Kolonieen ziemlich stark ausgebreitet, deren Inhalt ist äußerst fein granuliert, und deren Ränder sind rund. Die Farbe ist ein schmutziges Gelb.

Gelatinestichkultur: Entwickelung findet längs des ganzen Impfstiches statt unter äußerst rascher Verflüssigung der Gelatine in Form eines großen Trichters.

Agaragar: In Agarstrichkulturen findet bei Zimmertemperatur innerhalh 48 Stunden ein sehr reichliches Wachstum statt unter Bildung eines dichten citronengelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Die Bouillon wird gleichmäßig schwach getrübt nach 24 Stunden bei einer Temperatur von 30°.

Traubenzuckerbouillon: Gasbildung findet nicht statt, die Reaktion wird nicht verändert.

Milch: Die Bacillen wachsen und vermehren sich in der Milch, diese gerinnt aber nicht; der Geruch ist faulig.

Kartoffel: Es findet keine Entwickelung statt.

1-proz. Peptonwasser: Der Bacillus gedeiht nicht in demselben.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet kein bemerkenswertes Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Vermehrung.

Indol: Indolreaktion negativ.

Der Bacillus ist fakultativ anaërob.

Der Pigmentfarbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin

und Benzin. Man beobachtet keine Veränderung des Farbtones nach Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 15. Citronengelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 23° entwickeln sich in 48 Stunden mäßig große, runde Kolonieen mit citronengelbem Farbstoff. Bei schwacher Vergrößerung zeigen die oberflächlichen Kolonieen wenig Neigung zur Flächenausbreitung; ihr Inhalt ist fein gekörnt, der Rand rundlich.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Stichkanals, an der Oberfläche mit Pigmentbildung, in der Tiefe farblos; die Gelatine wird nicht verflüssig.

Agaragar: In Agarstrichkulturen findet schon bei Zimmertemperatur reichliches Wachstum statt, unter Bildung eines schönen orangegelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Bei 30° ist nach 24 Stunden die Bouillon gleichmäßig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Es wird kein Gas entwickelt, die Reaktion der Bouillon wird nicht verändert.

Milch: Reichlich gewachsene Milchkulturen sind geruchlos, die Milch wird nicht koaguliert.

Kartoffel: Auf Kartoffeln findet bei Zimmertemperatur eine ziemlich üppige Entwickelung statt, unter Bildung eines schönen citronengelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brutofen ist die Flüssigkeit ziemlich stark und gleichmäßig getrübt; Häutchenbildung wurde nicht beobachtet.

Sterilisiertes Leitungswasser: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen beobachtet man eine schwache Vermehrung der Aussaat.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.

Indol: Indolreaktion positiv.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob, verliert in letzterem Falle seine Farbe.

Chemische Reaktionen, ausgeführt mit frischen Kartoffelkulturen: Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Auch konnte keine Veränderung des Farbtones bemerkt werden nach Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 16. Citronengelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 20° beobachtet man nach 48 Stunden kleine, rundliche, weißlich-gelbe Kolonieen. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die oberflächlichen Kolonieen mäßig stark, flächenhaft ausgebreitet, rundlich, mit fein gezähnten Rändern, deren Inhalt fein gekörnt ist.

Gelatinestichkultur: Bei 23° findet eine Entwickelung längs des ganzen Impfstiches statt, ohne die Gelatine zu verflüssigen.

Agaragar: In Agarstrichkulturen findet schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur eine ziemlich lebhafte Entwickelung statt, unter Bildung eines mattgelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: In 24 Stunden findet bei 30° eine leichte Trübung des Nährbodens statt.

Traubenzuckerbouillon: Gas wird nicht produziert. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert neutral.

Milch: Die gut gewachsenen Kulturen sind geruchlos und machen die Milch langsam gerinnen.

Kartoffel: Es findet keine Entwickelung des Bacillus statt.

1-proz. Peptonwasser: In diesem Nährboden findet kein Wachstum statt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Eine sichtbare Vermehrung konnte selbst im Brutofen nicht erreicht werden.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung des Bacillus.

Indol: Indolreaktion negativ.

Der Bacillus ist fakultativ aërob und verliert bei anaërobem Wachstum die Fähigkeit, Pigmentfarbstoff zu bilden.

Chemische Reaktionen: Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Benzin und Terpentin. Derselbe wird nicht verändert durch Ammoniak, Essigsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure und Salzsäure.

---

No. 17. Citronengelbes Bakterium. Bacillus, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 20° beobachtet man nach 48 Stunden kleine, hellgelbe Kolonieen; dieselben lassen bei schwacher Vergrößerung einen leicht körnigen Inhalt erkennen, der Rand derselben ist fein gezackt.

Gelatinestichkultur: Bei 23° findet ein ziemlich üppiges Wachstum in 48 Stunden statt, auf der Oberfläche mit Farbstoffbildung; die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen findet kräftiges Wachstum statt, unter Bildung eines satten citronengelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Bei 30° findet nach 24 Stunden gleichmäßige Trübung statt, ohne Häutchenbildung.

Traubenzuckerbouillon: Gas wird nicht gebildet, die Reaktion der Bakterien bleibt alkalisch.

Milch: Sie gerinnt nicht, die Kulturen sind geruchlos, doch vermehren sich die Bakterien lebhaft.

Kartoffel: Bei Zimmertemperatur findet üppige Entwickelung statt, unter Bildung eines citronengelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Es findet eine reichliche Entwickelung statt, ähnlich wie in Bouillon.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet höchstens Spuren von Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Keine Farbenveränderung wird hervorgerufen durch Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 18. Bacillus, produziert schwarzen Farbstoff. Der Bacillus ist kurz, wächst zu mehr oder weniger langen Fäden aus, ist unbeweglich und färbt sich leicht mit den gewöhnlichen Anilinfarben, er entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Auf Gelatineplatten sieht man nach 48 Stunden bei einer Temperatur von 20° rundliche, schmutzig braungraue Kolonieen, welche die Gelatine nicht verflüssigen, dieselbe aber in ihrer Umgebung tief schwarzbraun bis schwarz verfärben. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen diese Kolonieen rundlich, mit glattem Rand; der Inhalt ist fein gekörnt, im Centrum heller, nach dem Rande zu immer dunkler werdend. Die Oberfläche ist höckerig.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches, die Gelatine wird nicht verflüssigt, dagegen schwärzlich verfärbt, in zunehmendem Grade von oben nach dem Grunde des Röhrchens zu.

Agaragar: In Strichkultur findet bei Zimmertemperatur reichliches Wachstum statt, welches am 4.—5. Tage seinen Höhepunkt erreicht. Die einzelnen Kolonieen sind höckerig und bröckelig trocken, von schmutzig dunkelgrauer Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Dieselbe zeigt reichliche Entwickelung und wird dabei dunkel verfärbt.

Traubenzuckerbouillon: Es wird keine Gasbildung beobachtet, die Reaktion der Bouillon wird sauer.

Milch: Dieselbe wird zur Gerinnung gebracht und entwickelt einen stinkenden Geruch. Der Bacillus färbt die Milch schwärzlich.

Kartoffel: Auf Kartoffeln findet eine ziemlich üppige Entwickelung statt, die am 4.—5. Tage ihren Höhepunkt erreicht. Die Kartoffel wird schwarzgrau verfärbt.

1-proz. Peptonwasser: Man beobachtet kein Wachstum des Bacillus.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie vorher.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Farbenveränderung konnte nicht beobachtet werden nach Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 19. Pigmentbakterium. Citronengelb. Sarcina. Im hängenden Tropfen beobachtet man bei mikroskopischer Untersuchung keinerlei Beweglichkeit des chromogenen Bacillus.

Es findet keine Entfärbung nach Gram statt.

Petri'sche Schale mit Gelatine: Reichliche Entwickelung von Kolonieen nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur von 25° C im Maximum und 16° C im Minimum. Mit bloßem Auge bemerkt man kleine, runde, gelbliche Kolonieen; unter dem Mikroskop gelbliche Kolonieen mit glatter Oberfläche und regelmäßigen Rändern. Sie verflüssigen die Gelatine nicht.

Gelatine: Bei Stichkultur verflüssigt sich die Gelatine nicht bei Zimmertemperatur von 24° C.

Agaragar: Strichkulturen: Reichliche Entwickelung bei Zimmertemperatur und Bildung einer dichten Oberflächenschicht von citronengelber Farbe.

Peptonbouillon: Innerhalb 24 Stunden und bei 30° C im Brütschrank findet keine Trübung der Flüssigkeit statt.

Bouillon mit Traubenzucker: Keine Gasbildung, die Bouillon ändert ihre Alkalinität auf Lackmuspapier nicht.

Milch: Gerinnt nicht, fauliger Geruch.

Kartoffeln: Starke Entwickelung bei gewöhnlicher Temperatur und Bildung eines dichten Rasens von citronengelber Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden im Brütofen tritt Trübung der Flüssigkeit ein.

Destilliertes Wasser: Nach 24 Stunden im Brütofen ist keinerlei Entwickelung zu beobachten.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher, ohne sichtbare Entwickelung, unter den nämlichen Bedingungen.

Indol: Giebt keine Reaktion.

Ist fakultativ aërob wie anaërob und verliert in letzterem Falle die Farbe.

Chemische Reaktionen: Sie wurden in allen Fällen mit frischen Kulturen auf Kartoffeln bestimmt. Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin, Benzin. In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich keine Veränderung in der Färbung derselben Kultur bei Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure-, Salpetersäurezusatz.

---

No. 20. Chromogenes Bakterium. Citronengelb. Staphylococcus. Unter dem Mikroskop läßt sich im hängenden Tropfen keinerlei Bewegung erkennen.

Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Es entwickeln sich Kolonieen in großen Mengen nach 48 Stunden bei einer Temperatur von 24° C als Maximum und 19 als Minimum. Mit bloßem Auge bemerkt man runde, gelbliche Kolonieen; bei mikroskopischer Untersuchung gelbliche Kolonieen mit glatten Rändern und gleichförmigem Inhalt. Die Gelatine wird nicht flüssig.

Gelatine: In Stichkultur und Zimmertemperatur von 25° C wird die Gelatine nicht flüssig.

Agaragar; Auf Strichkulturen reichliche Entwickelung bei Zimmertemperatur und Bildung einer Schicht von citronengelber Farbe.

1-proz. peptonisierte Bouillon: Nach 24 Stunden im Brütofen findet bei 30° C keine Trübung der Flüssigkeit statt.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Keine Gasbildung, keine Veränderung der Alkalinität auf Lackmuspapier.

Milch gerinnt nicht; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Reichliche Entwickelung bei Zimmertemperatur und Bildung eines dichten Oberflächenrasens von citronengelber Farbe.

Peptonisiertes Wasser: Nach 24 Stunden im Brütofen Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Bei 24 Stunden in der Brütkammer läßt sich keinerlei Entwickelung wahrnehmen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und unter den nämlichen Bedingungen keine Entwickelung.

Indol: Giebt keine Reaktion.

Ist fakultativ aërob wie anaërob und verliert im letzteren Falle die Farbe.

Chemische Reaktionen: Wurden bestimmt in sämtlichen Fällen mit frischen Kulturen von Kartoffeln. Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin. In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Man bemerkt keine Veränderung in der Färbung derselben Kultur bei Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 21. Chromogener Bacillus. Citronengelb. Man bemerkt unter dem Mikroskop beim hängenden Tropfen Bewegung dieses Bacillus.

Er entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Starke Entwickelung von Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 24° C im Maximum und 19° C im Minimum. Mit unbewaffnetem Auge lassen sich äußerst kleine Kolonieen auf der Oberfläche wahrnehmen, von rundlicher Form und weißlicher Farbe. Unter dem Mikroskop beobachtet man runde Kolonieen von einem gelblichen, körnigen Inhalt mit glatten Rändern.

Gelatine: Bei Stichkulturen tritt kein Flüssigwerden der Gelatine ein bei Zimmertemperatur von 20° C.

Agaragar: Auf Agarstrichkultur starke Entwickelung bei Zimmertemperatur, unter Bildung eines äußerst dichten Rasens von citronengelber Farbe.

1-proz. peptonisierte Bouillon: Bei 24 Stunden im Brütofen und bei einer Temperatur von 30° C starke Entwickelung bei gleichförmiger Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit Traubenzucker: Reichliche Entwickelung nach 24 Stunden im Brütschrank, Gasentwickelung. Die Bouillon verliert die Alkalinität und reagiert vollständig sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Ueppige Entwickelung; erzeugt Gerinnung; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Starke Entwickelung bei Zimmertemperatur, unter Bildung einer dichten Schicht von citronengelbar Farbe.

1-proz. peptonisiertes Wasser: Nach 24 Stunden im Brütofen Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Nach 24 Stunden im Brütofen läßt sich keine Entwickelung wahrnehmen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und bei gleichen Verhältnissen ist keine Entwickelung wahrnehmbar.

Indol: Giebt keine Reaktion.

Kann aërob und anaërob sein und verliert in letzterem Falle die Farbe.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen bestimmt mit frischen Kulturen von Kartoffeln.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Man bemerkt keinen Wechsel in der Färbung derselben Kultur bei Anwendung von Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure-, Salpetersäurezusatz.

---

No. 22. Chromogener Bacillus. Graulich. Unter dem Mikroskop lassen sich im hängenden Tropfen diese Bacillen als beweglich wahrnehmen.

Keine Entfärbung nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Ziemlich gute Entwickelung von Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 26° C als Maximum und 18° als Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich große weiße Kolonieen auf der Oberfläche erkennen, die wenig verflüssigt und von runder Gestalt sind. Unter dem Mikroskop erscheinen große Kolonieen von grauer Farbe mit einem Stich ins Grünliche, der Rand ist faserig.

Gelatine: Bei Stichkulturen läßt sich nach 48 Stunden an der Oberfläche reichliches Wachstum bemerken. Rasche Verflüssigung bei einer Zimmertemperatur von 25°.

Agaragar: Bei Strichkulturen reichliche Entwickelung bei Zimmertemperatur und Bildung einer Schicht von graulicher Farbe.

1-proz. peptonisierte Bouillon: Nach 24 Stunden im Brutofen bei 30° C reichliche Entwickelung unter gleichförmiger Trübung und Bildung einer Haut an der Oberfläche der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Ueppiges Wachstum im Brütofen. Keine Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert stark sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Reichliche Entwickelung; Gerinnung; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Starke Entwickelung des Bacillus bei Zimmertemperatur unter Bildung einer dichten Schicht von milchig-weißer Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden im Brütofen läßt sich starkes Wachstum erkennen; die Flüssigkeit wird gleichmäßig trübe und bildet sich eine Haut an der Oberfläche.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung nach 24 Stunden im Brütofen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und bei gleichen Verhältnissen ohne sichtbare Entwickelung.

Indol: Erzeugt keine Reaktion.

Kann in gleicher Weise aërob wie anaërob sein.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen mit frischen Kulturen von Kartoffeln bestimmt.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es läßt sich keine Veränderung der Färbung derselben Kultur erkennen bei Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 23. Chromogener Bacillus. Graulich. Im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop erscheint dieser Bacillus als unbeweglich.

Keine Entfärbung nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Ueppige Entwickelung von Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 26° C im Maximum und 16° als Minimum.

Mit bloßem Auge erkennt man an der Oberfläche Kolonieen von graulicher Farbe. Unter dem Mikroskop lassen sich etwas unregelmäßig geformte Kolonieen grobkörnigen Inhalts wahrnehmen; sie verflüssigen die Gelatine.

Gelatine: Bei Stichkulturen wird die Gelatine langsam flüssig in Form eines spitzen Trichters bei einer Zimmertemperetur von 24°.

Agaragar: Auf Schrägagar starke Entwickelung bei Zimmertemperatur und Bildung einer reichlichen Kultur von graulicher Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden im Brütofen und bei 30° C keine Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Keine Gasbildung. Die Bouillon verändert ihre Alkalinität und wird sauer.

Milch: Der Bacillus bringt sie zum Gerinnen; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Reichliche Entwickelung bei Zimmertemperatur unter Bildung einer reichlichen Bakterienmenge von graulicher Farbe.

1-proz. peptonisiertes Wasser: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen findet keine Trübung der Flüssigkeit statt.

Destilliertes Wasser: Es läßt sich nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen keine Entwickelung wahrnehmen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und unter denselben Verhältnissen ohne sichtbare Entwickelung.

Indol: Reichliche Indolentwickelung. Ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen; Die Bestimmungen wurden in allen Fällen mit frischen Kulturen von Kartoffeln gemacht.

Alkohol, Schwefeläther Xylol, Terpentin, Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Auch findet keine Veränderung in der Färbung derselben Kultur statt bei Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 24. Chromogener Bacillus. Graulich. Er läßt sich im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop beobachten, ist beweglich. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Es entwickeln sich äußerst zahlreiche Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 25° als Maximum und 16° als Minimum. Mit bloßem Auge sieht man kleine Kolonieen von weißlicher Farbe. Unter dem Mikroskop lassen sich kleine Kolonieen wahrnehmen von runder Gestalt und schmutzigweißer Farbe, glattem Rand und feinkörnigem Inhalt; sie machen die Gelatine flüssig.

Gelatine: Bei Stichkultur wird die Gelatine flüssig in Form eines spitzen Trichters nach 24 Stunden bei 24° C.

Agaragar: Auf Agarstrichkultur starke Entwickelung bei Zimmertemperatur und Bildung einer dichten Bakterienschicht von graulicher Farbe.

1-proz. peptonisierte Bouillon: Nach 24 Stunden im Brütofen bei einer Temperatur von 30° C, starke Entwickelung mit gleichmäßiger Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Reichliche Entwickelung. Keine Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert auf Lackmuspapier leicht sauer.

Milch: Starkes Wachstum. Milchgerinnung, fauliger Geruch.

Kartoffeln: Der Bacillus gelangt zu üppiger Entfaltung bei Zimmertemperatur und bildet eine dicke Schicht von graulicher Farbe.

Peptonwasser: Im Brütofen nach 24 Stunden gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung nach 24 Stunden im Brütofen bemerkbar.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und bei gleichen Verhältnissen keine Entwickelung zu ersehen.

Indol: Erzeugt positive Indolreaktion. Ist fakultativ aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen bestimmt mit frischen Kulturen von Kartoffeln.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es läßt sich kein Wechsel in der Färbung derselben Kultur beobachten bei Ammoniakzusatz, die Kulturen färben sich aber mattweiß bei Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 25. Chromogener Bacillus. Graulich. Läßt sich im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop wahrnehmen; ist beweglich. Entfärbt sich nicht nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Wenig starke Entwickelung von Kolonieen nach 24 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 23° C als Maximum und 16° als Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich runde, grauweiße Kolonieen beobachten, die gegen die Mitte zu dichter und weniger durchsichtig sind. Sie machen die Gelatine in weiter Ausdehnung flüssig. Unter dem Mikroskop zeigen sich runde Kolonieen mit einer Art von dichtem, undurchsichtigem Kern in der Mitte, an der Peripherie sind die Kolonieen heller; der Inhalt ist körnig, an den Rändern fein gezähnt. Sie verflüssigen die Gelatine.

Gelatine: Bei Stichkultur wird die Gelatine verflüssigt, und zwar nach 48 Stunden, bei einer Zimmertemperaturhöhe von 23°.

Agaragar: Auf Agarstrichkulturen starke Entwickelung bei Zimmertemperatur, Bildung eines dichten Rasens von graulicher Farbe.

1-proz. peptonisierte Bouillon: Nach 24 Stunden im Brütofen bei 30° C gleichförmige Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es kommt nicht zur Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert leicht sauer.

Milch: Reichliche Entwickelung, Gerinnen der Milch, fauliger Geruch.

Kartoffeln: Hier starke Entwickelung bei Zimmertemperatur unter Bildung einer Schicht von mattweißer Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Im Brütofen nach 24 Stunden starkes Wachstum bei gleichförmiger Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Es läßt sich nach 24 Stunden im Brütofen keine Entwickelung beobachten.

Sterilisiertes Leitungswasser: Nach 24 Stunden im Brütofen spärliche Entwickelung der Kultur bemerkbar.

Indol: Erzeugt keine Reaktion. Ist fakultativ aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen: Wurden bestimmt in sämtlichen Fällen mit frischen Kulturen von Kartoffeln.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es ist keine Veränderung in der Farbe derselben Kultur wahrnehmbar bei Ammoniak-, Essigsäure-, Chlorwasserstoffsäure und Salpetersäurezusatz.

---

No. 26. Chromogener Bacillus. Graulich. Im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop beweglich. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Es entwickeln sich Kolonieen innerhalb 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 24° als Maximum und 18° als Minimum. Mit bloßem Auge sieht man große Kolonieen auf der Oberfläche. Mit dem Mikroskop kann man sehr unregelmäßige dichte und in der Mitte undurchsichtige Kolonieen beobachten, faserig, gleichsam wie Baumzweige, von graulicher Farbe. Die Gelatine wird stark verflüssigt.

Gelatine: In Stichkultur wird die Gelatine mittelmäßig flüssig innerhalb 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 23°.

Agaragar: Auf Schrägagar und bei gewöhnlicher Temperatur üppige Entwickelung unter Bildung eines dichten Rasens von graulicher Farbe.

1-proz. peptonisierte Bouillon: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen bei 30° C gleichförmige Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es findet keine Gasentwickelung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert schwach sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Ueppige Entwickelung, Gerinnen, fauliger Geruch.

Kartoffeln: Starkes Wachstum bei Zimmertemperatur, sowie Bildung eines dichten Rasens von mattweißer Farbe.

1-proz. peptonisiertes Wasser: Im Brütofen innerhalb 24 Stunden Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Innerhalb 24 Stunden läßt sich keine Entwickelung wahrnehmen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und unter denselben Verhältnissen keine Entwickelung bemerkbar.

Indol: Giebt keine Reaktion.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen bestimmt mit frischen Kulturen von Kartoffeln.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es läßt sich keine Veränderung in der Färbung bei derselben Kultur wahrnehmen bei Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 27. Pigmentbakterium. Graulich. Bacillus. Unter dem Mikroskop im hängenden Tropfen beobachtet, ist er unbeweglich. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Es entwickelt sich eine ziemliche Anzahl von Kolonieen bei einer Temperatur von 24° C als Maximum und 18° als Minimum. Mit bloßem Auge bemerkt man kleine, weißliche Kolonieen, die die Gelatine nicht flüssig machen. Mit dem Mikroskop beobachtet man runde, gelbliche Kolonieen mit glattem Rande.

Gelatine: Bei Stichkultur wird die Gelatine nicht flüssig bei Zimmertemperatur von 23°.

Agaragar: Bei Strichkulturen üppige Entwickelung bei Zimmertemperatur, unter Bildung eines dichten Rasens von graulicher Farbe.

1-proz. peptonisierte Bouillon: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen bei einer Temperatur von 37° C tritt keine Trübung der Flüssigkeit ein.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es entwickelt sich kein Gas. Es läßt sich keine Veränderung in der Alkalinität der Bouillon auf Lackmuspapier beobachten.

Milch gerinnt nicht; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Reichliches Wachstum innerhalb 24 Stunden bei einer Temperatur von 25° C und Bildung eines dichten Rasens von graulicher Farbe.

1-proz. peptonisiertes Wasser: Im Brütofen innerhalb 24 Stunden Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung nach 24 Stunden im Brütofen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und unter gleichen Verhältnissen keine sichtbare Entwickelung.

Indol: Giebt keine Reaktion. Ist fakultativ aërob wie anaërob und verliert im letzteren Falle die Fähigkeit, Pigment zu bilden.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen mit frischen Kulturen von Kartoffeln bestimmt.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es läßt sich keine Veränderung in der Färbung derselben Kultur beobachten bei Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure-, Salpetersäurezusatz.

---

No. 28. Chromogen. Rötlich-gelb. Bacillus. Unter dem Mikroskop läßt sich im hängenden Tropfen keine Bewegung erkennen. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Entwickelung von wenigen Kolonieen nach 24 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 25° im Maximum und 16° im Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich auf der Oberfläche runde Kolonien erkennen. Sie machen die Gelatine trichterförmig flüssig. Mit dem Mikroskop lassen sich dunkle Kolonieen erkennen körnigen Inhalts, die Randung ist gebildet von kleinen Segmenten, die ihnen eine überaus unregelmäßige Gestalt geben. Sie machen die Gelatine flüssig.

Gelatine: Bei Stichkultur Flüssigwerden der Gelatine in konischer Trichterform, innerhalb 24 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 20°.

Agaragar: Auf Schrägagar ziemliche Entwickelung bei Zimmertemperatur, Bildung eines dichten Rasens von rötlich-gelber Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen bei 30° C tritt Trübung der Flüssigkeit ein.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Keine Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert leicht sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Der Bacillus bringt sie zum Gerinnen; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Starke Entwickelung bei Zimmertemperatur und Bildung einer dichten Kultur von bernsteingelber Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Bei 24 Stunden im Brütofen tritt Trübung der Flüssigkeit ein.

Destilliertes Wasser: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen kommt es zu einer spärlichen Entwickelung der Kultur.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und unter gleichen Verhältnissen schwache Entwickelung der Kultur.

Indol: Giebt keine Reaktion. Ist fakultativ aërob wie anaërob und verliert im letzteren Fall die Farbe.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen bestimmt mit frischen Kulturen von Kartoffeln.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich keine Veränderung in der Färbung der nämlichen Kultur bei Ammoniak- und Essigsäurezusatz, ändert die Farbe bei Salpetersäure in grünliches Gelb, bei Chlorwasserstoffsäure in rötliches Gelb und bei Schwefelsäure in schmutziges Gelb.

---

No. 29. Chromogener Bacillus. Rötlich-gelb. Bacillus. Im hängenden Tropfen unbeweglich. Entfärbt sich nicht nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Ueppiges Wachstum der Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 24° als Maximum und 16° als Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich auf der Oberfläche runde Kolonieen erkennen. Mit dem Mikroskop lassen sich große Kolonieen körnigen Inhalts erkennen, gegen die Mitte zu mehr dunkel, von schmutzigem Gelb, mit unregelmäßigen Rändern. Sie verflüssigen die Gelatine nicht.

Gelatine: Bei Stichkulturen wird die Gelatine nicht flüssig, Zimmertemperatur 20°.

Agaragar: Bei Strichkulturen starke Entwickelung bei Zimmertemperatur, sowie Bildung einer Schicht von rötlich-gelber Farbe.

1-proz. peptonisierte Bouillon: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen bei 35° C keine Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es findet keine Gasbildung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert schwach sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Gerinnt nicht, die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Auf Kartoffeln wächst die Kultur nicht bei Zimmertemperatur.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen tritt keine Trübung der Flüssigkeit ein.

Destilliertes Wasser: Keinerlei Entwickelung innerhalb 24 Stunden im Brütofen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine Entwickelung der Kultur nach 24 Stunden im Brütofen.

Indol: Giebt keine Reaktion. Ist fakultativ aërob.

---

No. 30. Pigmentbacillus. Rötlich-gelb. Bacillus. Im hängenden Tropfen beweglich. Entfärbt sich nicht nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Es entwickeln sich Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 24° im Maximum und 18° im Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich kleine runde Kolonien erkennen, die die Gelatine nicht zum Flüssigwerden bringen. Mit dem Mikroskop lassen sich kleine, runde gelbliche Kolonieen von körnigem Inhalt und mit glatten Rändern erkennen. Sie verflüssigen die Gelatine nicht.

Gelatine: Bei Stichkulturen wird die Gelatine nicht flüssig, bei Zimmertemperatur 18° C.

Agaragar: Auf Schrägagar Entwickelung bei Zimmertemperatur und Bildung einer Schicht von rötlich-gelber Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Innerhalb 24 Stunden bei 37° C im Brütofen tritt Trübung der Flüssigkeit ein.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Keine Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert stark sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Starke Entwickelung; die Milch gerinnt; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Ueppiges Wachstum bei Zimmertemperatur unter Bildung einer Kultur von mattgelber Farbe.

Peptonisiertes Wasser: Innerhalb 24 Stunden tritt im Brütofen Trübung ein.

Destilliertes Wasser: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen spärliche Entfaltung der Kultur.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine Entwickelung zu bemerken nach 24 Stunden im Brütofen.

Indol: Keine Reaktion. Ist fakultativ aërob wie anaërob und verliert im letzteren Fall die Farbe.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen mit frischen Kulturen auf Kartoffeln bestimmt.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich kein Wechsel in der Färbung von derselben Kultur bei Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 31. Pigmentbacillus. Rötlich-gelb. Bacillus. Im hängenden Tropfen beweglich. Entfärbt sich nicht nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Es entfalten sich nur wenige Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 26° als Maximum und 16° als Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich große, runde, gelbliche Kolonieen erkennen. Mit dem Mikroskop erkennt man große, gelbliche Kolonieen körnigen Inhalts, mit ebenfalls körnigen Umrandungen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Gelatine: Bei Stichkulturen wird die Gelatine nicht flüssig bei Zimmertemperatur von 20°.

Agaragar: Auf Agarstrichkultur ziemliche Entwickelung bei Zimmertemperatur, Bildung einer starken Kultur von rötlich-gelber Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Innerhalb 24 Stunden bei Aufenthalt im Brütofen von 37° C tritt Trübung der Flüssigkeit ein.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es erfolgt keine Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert etwas sauer auf Lackmuspapier.

Milch gerinnt nicht; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Keine Entwickelung der Kultur bei Zimmtemperatur.

1-proz. Peptonwasser: Innerhalb 24 Stunden tritt im Brütofen Trübung ein.

Destilliertes Wasser: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen keine Entwickelung bemerkbar.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und unter gleichen Verhältnissen keine sichtbare Entfaltung.

Indol: Giebt keine Reaktion. Ist fakultativ aërob wie anaërob und verliert in letzterem Fall die Farbe.

---

No. 32. Pigmentbacillus. Rötlichgelb. Unter dem Mikroskop lassen sich im hängenden Tropfen diese Bacillen als unbewegliche erkennen. Sie entfärben sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Sehr üppiges Wachstum von Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 28° als Maximum und 16° als Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich große, runde Kolonieen an der Oberfläche mit sehr hellem roten Schein erkennen. Unter dem Mikroskop sieht man verschwommene, abgerundete, rötliche, sehr dichte, dunkle Kolonieen mit unregelmäßigen Rändern. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Gelatine: Bei Stichkultur wird die Gelatine nicht verflüssigt; Zimmertemperatur 20°.

Agaragar: Auf Agarstrichkultur starkes Wachstum bei Zimmertemperatur, Bildung eines dichten Rasens von rötlichgelber Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden im Brütofen bei 30° C erfolgt keine Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es bildet sich kein Gas. Die Bouillon reagiert unverändert alkalisch auf Lackmuspapier.

Milch: Gerinnt nicht; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Starke Entfaltung bei Zimmertemperatur unter gleichzeitiger Bildung eines dichten Rasens von schmutziggelber Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden im Brütofen erfolgt keine Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Nach 24 Stunden im Brütofen geringe Entwickelung der Kultur.

Sterilisiertes Leitungswasser: Es läßt sich kein Wachstum innerhalb 24 Stunden im Brütofen erkennen.

Indol: Ergiebt keine Reaktion.

Ist fakultativ aërob wie anaërob und verliert in letzterem Fall die Farbe.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen bestimmt mit frischen Kulturen von Kartoffeln.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es ist keine Veränderung ersichtlich in der Färbung der nämlichen Kultur bei Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 33. Pigmentbacillus. Grün. Läßt sich mit dem Mikroskop im hängenden Tropfen als beweglicher Bacillus beobachten. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Entwickelung zahlreicher Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 24° C im Maximum und 16° im Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich auf der Oberfläche große Kolonieen mit unregelmäßigen Rändern erkennen, die die Gelatine ausgeprägt dunkelgrün färben. Unter dem Mikroskop sieht man große grobkörnige Kolonieen mit unregelmäßigen, kranzförmigen Rändern. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Gelatine: Bei Stichkulturen wird die Gelatine nicht flüssig; Zimmertemperatur 27°.

Agaragar: Auf Agarstrichkulturen starke Entfaltung bei Zimmertemperatur unter gleichzeitiger Bildung einer dichten, grünen Schicht.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden bei 37° im Brütofen erfolgt Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Starke Entwickelung mit Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert stark sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Starke Entwickelung; Peptonisierung; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Reichliches Wachstum bei Zimmertemperatur und gleichzeitiger Bildung einer dichten Schicht von gelblichbrauner Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Innerhalb 24 Stunden tritt im Brütschrank Trübung der Flüssigkeit ein.

Destilliertes Wasser: Nach 24 Stunden im Brütofen keinerlei Entwickelung bemerkbar.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und unter gleichen Verhältnissen ohne wahrnehmbare Entwickelung.

Indol: Reagiert positiv.

Ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen bestimmt mit frischen Kulturen von Kartoffeln.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich kein Wechsel in der Färbung der gleichen Kultur bei

Ammoniakzusatz und ändert die Farbe in bläuliches Weiß bei Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 34. Pigmentbakterium. Grün. Bacillus. Im hängenden Tropfen unbeweglich. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalten mit Gelatine: Nur wenig starke Entwickelung von Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 27° C als Maximum und 16° als Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich auf der Oberfläche kleine, runde Kolonieen von hellgrüner Farbe beobachten. Mit dem Mikroskop erkennt man grünlichgelbe, dichte, dunkle, abgerundete Kolonieen von körnigem Inhalt mit dichterem Kern; sie haben glatte Ränder. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Gelatine: Bei Stichkultur wird die Gelatine nicht verflüssigt; Zimmertemperatur 26° C.

Agaragar: Auf Agarstrichkultur reichliche Entfaltung bei Zimmertemperatur unter Bildung einer dichten Kultur von grüner Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen bei 37° C findet gleichförmige Trübung der Flüssigkeit statt.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es erfolgt keine Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert schwach sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Starke Entwickelung; Peptonisierung; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Ueppiges Wachstum bei Zimmertemperatur unter Bildung einer dichten Kultur von gelblichbrauner Farbe.

Peptonisiertes Wasser: Nach 24 Stunden im Brütschrank erfolgt gleichmäßiges Trübwerden der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Es läßt sich bei 24 Stunden im Brütofen keine Entwickelung bemerken.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und bei gleichen Verhältnissen ohne wahrnehmbare Entwickelung.

Indol: Ergiebt positive Indolreaktion.

Ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen bestimmt mit frischen Kulturen von Kartoffeln.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin, Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich keine Veränderung in der Färbung derselben Kultur bei Ammoniakzusatz und ändert die Farbe in milchigweiß bei Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 35. Pigmentbakterium. Fluorescens. Bacillus. Unbeweglich. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Entwickelung zahlreicher Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 26° als Maximum und 19 als Minimum. Mit blossem Auge lassen sich auf der Oberfläche kleine runde Kolonieen erkennen von grünlichweißer Farbe. Mit dem Mikroskop kann man an der Oberfläche große, gelbliche, runde und an den Rändern leicht ausgebuchtete Kolonieen mit körnigem Inhalt beobachten. Sie bringen die Gelatine nicht zum Flüssigwerden. In der Tiefe der Gelatine kann man dieselben Kolonieen erkennen, aber klein, gelblich und mit völlig runden Rändern.

Gelatine: Bei Stichkultur wird die Gelatine nicht verflüssigt; Zimmertemperatur 20°.

Agaragar: Auf Agarstrichkultur reichliche Entwickelung innerhalb 48 Stunden bei Zimmertemperatur unter Bildung einer Kultur von grünlicher Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden bei 37° im Brütofen zeigt sich gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es erfolgt keine Gasentwickelung noch Aenderung der Alkalinität der Bouillon auf Lackmuspapier.

Milch: Spärliches Wachstum; die Milch gerinnt nicht; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Starke Entwickelung bei Zimmertemperatur nebst Bildung eines Rasens von gelblichgrauer Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Im Brütofen zeigt sich nach 24 Stunden gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Keinerlei Entwickelung zu erkennen nach 24 Stunden im Brütofen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und bei gleichen Verhältnissen ohne ersichtliche Entfaltung von Wachstum.

Indol: Keine Reaktion.

Ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Wurden bestimmt in allen Fällen mit frischen Kulturen von Kartoffeln.

Alkohohl, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es läßt sich kein Wechsel in der Färbung derselben Kultur bemerken bei Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 36. Pigmentbakterium. Fluorescens. Bacillus. Läßt mit dem Mikroskop im hängenden Tropfen deutliche Bewegung erkennen. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Entwickelung einer großen Anzahl von Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 24° als Maximum und 18° als Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich runde, grüne Kolonieen wahrnehmen. Mit dem Mikroskop beobachtet man grünlichgelbe Kolonieen von unregelmäßiger Gestalt, grobkörnigen Inhalts und mit unregelmäßigen Randungen. Sie machen die Gelatine nicht flüssig.

Gelatine: Bei Stichkulturen wird die Gelatine nicht verflüssigt bei Zimmertemperatur.

Agaragar: Auf Agarstrichkulturen starke Entwickelung bei Zimmertemperatur unter Bildung einer dichten Schicht von grüner Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden im Brütofen bei 37° C erfolgt gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es erfolgt keine Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und wird schwach sauer.

Milch: Starke Entwickelung, ohne die Milch zum Gerinnen zu bringen; die Kulturen bleiben geruchlos.

Kartoffeln: Mäßige Entwickelung bei Zimmertemperatur unter Bildung einer dichten Schicht von gelblichbrauner Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Im Brütofen tritt nach 24 Stunden Trübung der Flüssigkeit ein.

Destilliertes Wasser: Es läßt sich keine Entwickelung nach 24 Stunden im Brütofen wahrnehmen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und unter gleichen Verhältnissen ist kein Wachstum ersichtlich.

Indol: Reaktion negativ.

Ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Wurden in sämtlichen Fällen mit frischen Kulturen auf Kartoffeln bestimmt.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keiner dieser chemischen Agentien löslich. Es läßt sich kein Wechsel in der Färbung derselben Kultur bei Ammoniakzusatz beobachten, wechselt aber die Farbe in bläulichweiß bei Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 37. Pigmentbakterium. Fluorescens. Bacillus: Unbeweglich. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Starke Entwickelung von Kolonieen nach 24 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 28° C im Maximum und 16° C im Minimum. Mit bloßem Auge sieht man kleine, runde, grünliche Kolonieen. Mit dem Mikroskop lassen sich kleine, sphärische, glattrandige Kolonieen von ebenfalls gleichförmig, glattem Inhalt unterscheiden. Die Gelatine wird verflüssigt.

Gelatine: Bei Stichkulturen wird die Gelatine in Trichterform im Verlauf von 48 Stunden mäßig verflüssigt bei einer Zimmertemperatur von 20° C.

Agaragar: Auf Agarstrichkultur starkes Wachstum bei Zimmertemperatur unter Grünfärbung des Nährbodens.

1-proz. Peptonbouillon: Im Verlauf von 24 Stunden bei 30° C im Brütofen gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Keine Gasentwickelung. Die Bouillon verändert ihre Alkalinität auf Lackmuspapier und reagiert sauer.

Milch: Starkes Wachstum; die Milch gerinnt; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Ueppige Entwickelung bei Zimmertemperatur unter Bildung einer dichten Schicht von gelblichbrauner Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Dasselbe wird innerhalb 24 Stunden im Brütofen gleichmäßig trüb.

Destilliertes Wasser: Nach 24 Stunden im Brütofen spärliche Entwickelung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und unter den nämlichen Bedingungen zeigt sich spärliches Wachstum der Kultur.

Indol: Reaktion negativ.

Ist fakultativ aërob.

Chemische Beaktionen: Wurden in allen Fällen mit frischen Kulturen von Kartoffeln bestimmt.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich keine Veränderung in der Färbung derselben Kultur bei Ammoniak- und Essigsäurezusatz, wechselt aber die Farbe in milchigweiß bei Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 38. Pigmentbakterium. Fluorescens. Bacillus. Im hängenden Tropfen beweglich. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Es entwickelt sich eine mäßige Anzahl von Kolonieen im Verlauf von 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 27° C im Maximum und 22° im Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich auf der Oberfläche kleine, nur wenig flüssige Kolonieen entdecken, die in der Mitte einen kleinen grünlichgrauen Punkt zeigen, die Umgebung wird grün gefärbt. Mit dem Mikroskop lassen sich Kolonieen entdecken von runder Form, in der Mitte grünlichgrau, außen an den Rändern zeigen sie zarte Härchen, die an ihren Enden überaus fein sind. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Gelatine: Bei Stichkultur wird die Gelatine nicht verflüssigt; Zimmertemperatur 22° C.

Agaragar: Auf Schrägagar regelmäßiges Wachstum bei Zimmertemperatur und Grünfärbung des Nährbodens.

1-proz. Peptonbouillon: Im Verlauf von 24 Stunden bei 30° C im Brütofen tritt ein gleichmäßiges Trübwerden der Flüssigkeit ein.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es erfolgt keine Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert leicht sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Spärliches Wachstum; Peptonisierung der Milch; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Regelmäßige Entwickelung bei Zimmertemperatur und Bildung eines Rasens von schmutziggelber Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden im Brütofen erfolgt Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Es läßt sich kein Wachstum im Verlauf von 24 Stunden im Brütschrank erkennen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Spärliche Entfaltung der Kultur nach 24 Stunden im Brütofen.

Indol: Reaktion negativ.

Ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Wurden in sämtlichen Fällen mit frischen Kulturen von Kartoffeln bestimmt.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich kein Wechsel in der Färbung derselben Kultur bei Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 40. Pigmentbakterium. Fluorescens. Bacillus. Läßt sich im hängenden Tropfen mit dem Mikroskop als beweglicher Bacillus beobachten. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Es entwickeln sich Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 26° C als Maximum und 19° als Minimum. Mit bloßem Auge sieht man kleine, weißliche, undurchsichtige Kolonieen von runder Gestalt. Unter dem Mikroskop zeigen sie sich von zimmtgelber Farbe, mit welligen Rändern, fast durchschimmernd, gegen die Mitte zu weniger durchscheinend. Die Gelatine machen sie nicht flüssig, färben sie dagegen grün.

Gelatine: Bei Stichkulturen wird die Gelatine nicht verflüssigt bei einer Zimmertemperatur von 22° C.

Agaragar: Auf Agarstrichkulturen starke Entwickelung bei Zimmertemperatur unter gleichzeitiger Bildung eines dichten Rasens von grüner Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Nach Verlauf von 24 Stunden im Brütofen bei 37° C erfolgt gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es erfolgt keine Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Starke Entwickelung; Peptonisierung; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Ueppiges Wachstum bei Zimmertemperatur unter gleichzeitiger Bildung einer Kultur von gelblichbrauner Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen spärliche Entwickelung der Kultur.

Sterilisiertes Leitungswasser: Nach 24 Stunden im Brütschrank keinerlei Entwickelung.

Indol: Reaktion negativ.

Ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen mit frischen Kulturen von Kartoffeln bestimmt.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: Ist in keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es läßt sich keine Veränderung in der Färbung derselben Kultur feststellen bei Ammoniak-, Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 41. Pigmentbakterium. Fluorescens. Bacillus. Unbeweglich. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Mittelmäßige Entwickelung von Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 24° als Maximum und 16° als Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich auf der Oberfläche grünliche Kolonieen beobachten. Unter dem Mikroskope erscheinen runde, feinkörnige, glattrandige Kolonieen, die die Gelatine flüssig machen und die Umgebung grün färben.

Gelatine: Bei Stichkulturen wird die Gelatine an der Oberfläche nach 48 Stunden und bei einer Zimmertemperatur von 19° stark verflüssigt.

Agaragar: Auf Agarstrichkultur starke Entwickelung bei Zimmertemperatur mit Grünfärbung des Nährbodens.

1-proz. Peptonbouillon: Im Verlauf von 24 Stunden im Brütofen bei 30° erfolgt gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Bouillen mit 1-proz. Traubenzucker: Es entwickelt sich kein Gas. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert leicht sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Starkes Wachstum; die Milch wird peptonisiert; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Ziemlich üppige Entfaltung bei Zimmertemperatur und Bildung einer gelblichgrauen Schicht.

1-proz. Peptonwasser: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen wird die Flüssigkeit gleichmäßig trübe.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum ersichtlich bei 24 Stunden im Brütschrank.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und bei gleichen Verhältnissen ohne wahrnehmbare Entfaltung.

Indol: Reaktion negativ.

Ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Wurden in sämtlichen Fällen mit frischen Kulturen von Kartoffeln bestimmt.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich kein Wechsel in der Färbung derselben Kultur bei Ammoniakzusatz und ändert die Farbe in mattweiß bei Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 42. Pigmentbakterium. Fluorescens. Bacillus. Im hängenden Tropfen sehr beweglich. Entfärbt nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Ueberaus große Entwickelung von Kolonieen nach 24 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 28° C als Maximum und 17° als Minimum unter Grünfärbung des Nährbodens. Mit bloßem Auge unterscheidet man sehr kleine, runde, grünliche Kolonieen. Mit dem Mikroskop lassen sich kleine, runde, glattrandige Kolonieen von körnigem Inhalt, die gegen die Mitte zu etwas dichter sind, beobachten. Sie machen die Gelatine flüssig.

Gelatine: Bei Stichkulturen wird die Gelatine in 48 Stunden und bei einer Zimmertemperatur von 19° an der Oberfläche unter gleichzeitiger Grünfärbung in ziemlicher Ausdehnung verflüssigt.

Agaragar: Auf Agarstrichkulturen ausgedehntes Wachstum bei Zimmertemperatur und Grünfärbung der Umgebung.

1-proz. Peptonbouillon: Im Verlauf von 24 Stunden im Brütofen bei 30° C beträchtliche Entwickelung unter gleichmäßiger Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Ziemlich starkes Wachstum. Keine Gasbildung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert leicht sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Ansehnliche Entfaltung; die Milch gerinnt; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Ueppiges Wachstum bei Zimmertemperatur und Bildung einer dichten Schicht von gelblichgrauer Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Im Verlauf von 24 Stunden im Brütofen erfolgt gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Bei 24 Stunden im Brütofen ohne Entwickelung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Nach 24 Stunden im Brütofen dürftige Entfaltung der Kultur.

Indol: Reaktion negativ.

Ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Die Bestimmungen wurden in allen Fällen nach frischen Kulturen von Kartoffeln gemacht.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich kein Wechsel in der Färbung derselben Kultur bei Ammoniakzusatz und ändert die Farbe in mattweiß bei Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 43. Pigmentbakterium. Fluorescens. Bacillus. Unbeweglich. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Mittelmäßige Entwickelung von Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 25° als Maximum und 18° im Minimum. Mit bloßem Auge erkennt man an der Oberfläche kleine, flüssige, weißliche Kolonieen, die die Umgebung grün färben. Unter dem Mikroskop treten große, weiße, runde, glattrandige Kolonieen hervor, die die Gelatine flüssig machen.

Gelatine: Bei Stichkultur wird ein großer Teil der Gelatine verflüssigt in konischer Trichterform im Verlauf von 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 20° C.

Agaragar: Auf Agarstrichkulturen starke Entwickelung bei Zimmertemperatur bei gleichzeitiger Grünfärbung des Nährbodens.

1-proz. Peptonbouillon: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen bei 37° erfolgt gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Keine Gasentwickelung. Die Bouillon wird sauer.

Milch: Starke Entwickelung; die Milch gerinnt; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Starkes Wachstum bei Zimmertemperatur, Bildung einer dichten Schicht von gelblichbrauner Farbe.

1-proz. Peptonwasser: Innerhalb 24 Stunden im Brütofen tritt Färbung der Flüssigkeit ein.

Destilliertes Wasser: Wenig Wachstum der Kultur in 24 Stunden im Brütschrank.

Sterilisiertes Leitungswasser: Es läßt sich keine Entwickelung nach 24 Stunden im Brütofen wahrnehmen.

Indol: Reaktion negativ.

Ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Wurden in sämtlichen Fällen bestimmt mit frischen Kulturen auf Kartoffeln.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich kein Wechsel in der Färbung derselben Kultur bei Ammoniakzusatz, ändert aber die Farbe in mattweiß bei Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 44. Pigmentbakterium. Fluorescenz. Bacillus. Ist sehr beweglich im hängenden Tropfen. Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Sehr starke Entwickelung von Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 24° C als Maximum und 16° als Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich auf der Oberfläche runde Kolonieen beobachten, die die Gelatine ausgesprochen grün färben. Mit dem Mikroskop lassen sich grüne glattrandige Kolonieen erkennen, deren Inhalt in feinen Strahlen verteilt ist. Sie machen die Gelatine flüssig.

Gelatine: Bei Stichkulturen verflüssigt sich die Gelatine nur mäßig an der Oberfläche innerhalb 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 19° C.

Agaragar: Auf Agarstrichkulturen ziemliches Wachstum bei Zimmertemperatur unter gleichzeitiger Grünfärbung des Agars.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden im Brütofen bei 37° C erfolgt gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Es tritt keine Gasbildung ein. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und zeigt sich stark sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Starke Entwickelung, Gerinnen der Milch; fauliger Geruch.

Kartoffeln: Ueppiges Wachstum bei Zimmertemperatur; es bildet sich eine dichte grünlichgraue Schicht.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden im Brütofen erfolgt Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Es läßt sich nach 24 Stunden im Brütschrank keine Entwickelung bemerken.

Sterilisiertes Leitungswasser: Wie vorher und unter gleichen Verhältnissen ohne sichtbares Wachstum.

Indol: Reaktion negativ.

Ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktion: Wurden in allen Fällen bestimmt mit frischen Kulturen von Kartoffeln.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin. In keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich kein Wechsel in der Färbung derselben Kultur bei Ammoniakzusatz und verändert die Farbe in mattweiß bei Essigsäure-, Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

Pigmentbakterium No. 45. Fluorescens. Bacillus. Im hängenden Tropfen beweglich.

Entfärbt sich nach Gram.

Petri'sche Schalen mit Gelatine: Entwickelung zahlreicher Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Zimmertemperatur von 26° im Maximum und 19° im Minimum. Mit bloßem Auge lassen sich auf der Oberfläche und tiefer am Boden runde, glattrandige Kolonieen beobachten, die dem ganzen Nährboden eine ausgesprochen grünliche Färbung verleihen. Mit dem Mikroskop erkennt man runde, körnige, glattrandige Kolonieen von grünlicher Farbe. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Gelatine: Bei Stichkulturen wird die Gelatine nicht flüssig bei Zimmertemperatur von 20° C.

Agaragar: Auf Agarstrichkulturen in 24 Stunden reichliches Wachstum und Bildung einer grünlichen Schicht bei einer Zimmertemperatur von 26°.

1-proz. Peptonbouillon: Im Verlauf von 24 Stunden im Brutofen bei 30° C starke Entwickelung mit gleichmäßiger Trübung der Flüssigkeit.

Bouillon mit 1-proz. Traubenzucker: Keine Gasentwickelung. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität und reagiert schwach sauer auf Lackmuspapier.

Milch: Gerinnt nicht; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Ziemliches Wachstum bei Zimmertemperatur und Bildung einer gelblichbraunen Oberschicht.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden im Brutofen mittelmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung ersichtlich nach 24 Stunden im Brutofen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Dürftige Entwickelung der Kultur nach24 Stunden im Brutschrank.

Indol: Reaktion negativ.

Ist fakultativ aërob wie anaërob und verliert in letzterem Falle die Farbe.

Chemische Reaktionen: Wurden in allen Fällen bestimmt mit frischen Kulturen auf Kartoffeln.

Alkohol, Schwefeläther, Xylol, Terpentin und Benzin: Ist in keinem dieser chemischen Agentien löslich. Es zeigt sich kein Wechsel in der Färbung derselben Kultur bei Ammoniak- und Essigsäurezusatz, verändert aber seine Farbe in mattweiß bei Schwefelsäure-, Chlorwasserstoffsäure- und Salpetersäurezusatz.

---

No. 46. Bacillus fluorescens: Verde: Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 18—23° entwickeln sich schon nach 24 Stunden kleine Kolonieen von schmutzig weißgrauer Farbe, dieselben verflüssigen die Gelatine und verfärben dieselbe grünlich.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Kolonieen in ihrem Inneren leicht gekörnt, mit grünlichgrauer Farbe.

Die Ränder sind unregelmäßig ausgebuchtet unter Ausschickung von strahlenförmigen Ausläufern.

Gelatinestichkultur: Bei 19° findet nach 48 Stunden eine ziemlich reichliche Entwickelung statt.

Die Gelatine wird rasch in Form eines Trichters verflüssigt und gleichzeitig grün fluorescierend.

Agaragar: In Strichkulturen findet bei Zimmertemperatur ziemlich lebhafte Entwickelung statt; die Kolonieen sind schmutziggrau, der Bacillus macht den ihn umgebenden Agaragar grünschillernd.

1-proz. Peptonbouillon: Bei 30° findet schon nach 24 Stunden ein äußerst reichliches Wachstum statt unter gleichmäßiger Trübung des Nährbodens.

Bei längerem Stehen beobachtet man an der Oberfläche ein Häutchen. Die oberen Partieen der Bouillon sind grünlich verfärbt.

Traubenzuckerbouillon: Eine Gasbildung findet nicht statt, die Bouillon wird sauer.

Milch: Reichliches Wachstum, Gerinnung, stinkender Geruch.

Kartoffel: Bei Zimmertemperatur sind die Kulturen nach 48 Stunden kräftig gewachsen unter Grünfärbung der Kartoffel.

1-proz. Peptonwasser: Man beobachtet keine Entwickelung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Kein Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Vermehrung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der grüne Farbstoff ist unlöslich in den obengenannten Reagentien. Die Farbe wird nicht verändert durch Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 47. Bacillus fluorescens: Grün. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 17—23° kleine runde Kolonieen, welche die sie umgebende Gelatine grünlich verfärben.

Bei schwacher Vergrößerung beobachtet man runde Kolonieen. Von dem Inneren gehen strahlenförmige Ausläufer nach dem Rande zu und verleihen diesem ein unregelmäßig strahlenförmiges Aussehen.

Gelatinestichkultur; Wächst am ganzen Impfstich entlang und verflüssigt die Gelatine nicht. In den oberen Schichten wird dieselbe grünlich verfärbt.

Agaragar: In Strichkulturen findet schon bei Zimmertemperatur reichliches Wachstum statt. Die Umgebung wird grünlich verfärbt.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden wird dieselbe bei 30° gleichmäßig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Es wird kein Gas gebildet, die Reaktion der Bouillon bleibt unverändert.

Milch: In Milch reichliches Wachstum, Aussehen der Milch wird nicht verändert, ebensowenig der Geruch.

Kartoffel: Bei Zimmertemperatur findet reichliches Wachstum statt unter Hervorbringung eines graugelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit wird nach 24 Stunden bei 30° stark und gleichmäßig getrübt, ohne Häutchenbildung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Findet mäßiges Wachstum statt.

Destilliertes Wasser: Der Bacillus entwickelt sich in mäßigem Grade.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob, verliert seine Farbe in letzterem Falle.

Chemische Reaktion, mit Kartoffelkulturen angestellt. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Auch bleibt die Farbe unverändert bei Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 48. Bacillus fluorescens: Grün. Kurze Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nach Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 18—22° entwickeln sich schon nach 24 Stunden kleine weißliche Kolonieen mit grüner Umgebung. Bei schwacher Vergrößerung erscheint der Inhalt derselben unregelmäßig gekörnt, die Ränder unregelmäßig ausgebuchtet.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches, an der Oberfläche unter Grünfärbung der Gelatine, welche außerordentlich stark und schnell verflüssigt wird.

Agaragar: In Strichkulturen reichliche Entwickelung schon bei Zimmertemperatur unter Bildung eines grünen, den Agaragar verfärbenden Farbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Die Flüssigkeit wird in 24 Stunden bei 30° gleichmäßig getrübt. An der Oberfläche bildet sich ein ziemlich starkes Häutchen.

Traubenzuckerbouillon: Gas wird nicht gebildet, die Bouillon behält ihre Alkalinität.

Milch: In Milch beobachtet man äußerst reichliches Wachstum. Die Milch wird nicht koaguliert.

Kartoffel: Auf Kartoffeln züchtet man die Bacillen in reichlichen Massen. Die Kartoffeln werden graugelblich verfärbt.

1-proz. Peptonwasser: In 24 Stunden beobachtet man gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Sterilisiertes Leitungswasser: Kein Wachstum.

Destilliertes Wasser: Ebenfalls keine Entwickelung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen: Der Farbstoff ist löslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Die Farbe bleibt unverändert bei Zusatz von Laugen und Säuren

---

No. 49. Bacillus fluorescens: Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen beweglich, entfärbt sich nach Gram.

Gelatineplatten: Man beobachtet sehr spärliches Wachstum. Nach Verlauf von 48 Stunden sind die Kolonieen noch sehr klein.

Bei schwacher Vergrößerung sind die Kolonieen fein granuliert, mit unregelmäßigen Rändern.

Die Umgebung wird hellgrün verfärbt.

Gelatinestichkultur: Bei 19° findet in 48 Stunden längs des ganzen Impfstiches Entwickelung statt. An der Oberfläche wird die Gelatine grünlich verfärbt. Man beobachtet ziemlich langsame Verflüssigung.

Agaragar: In Strichkultur bemerkt man mäßiges Wachstum unter Grünfärbung des Nährbodens.

1-proz. Peptonbouillon: Bei 30° in 24 Stunden gleichmäßige Trübung. Es bildet sich ein Häutchen an der Oberfläche.

Traubenzuckerbouillon: Gas wird nicht gebildet, die Reaktion ist leicht sauer.

Milch: Die Milch wird koaguliert unter Produktion eines stinkenden Geruches.

Kartoffel: Bei Zimmertemperatur reichliche Entwickelung unter Bildung eines grüngelben Farbstoffes, der in den Nährboden diffundiert.

1-proz. Peptonwasser: In 24 Stunden gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit. Oberflächliche Häutchenbildung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Kein sichtbares Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen: Der Farbstoff ist löslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Seine Farbe verändert er nicht bei Zusatz von Ammoniak verschiedenen Säuren.

---

No. 50. Bacillus fluorescens: Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 13—26° entwickeln sich in 48 Stunden kleine runde Kolonieen mit runden Rändern, mit einem kleinen weißen Punkt im Centrum.

Bei schwacher Vergrößerung beobachtet man runde Kolonieen. Das Innere ist von einer schmutziggelben Farbe; von den Rändern gehen feine kleine Ausläufer aus. Sie verflüssigen die Gelatine.

Gelatinestichkultur: Bei einer Temperatur von 19° beobachtet man nach 48 Stunden Entwickelung längs des ganzen Impfstiches. An der Oberfläche wird die Gelatine leicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Der Agaragar wird mit einer Schicht von grüner Farbe bedeckt.

1-proz. Peptonbouillon: Gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen von 30°.

Traubenzuckerbouillon: Es entwickelt sich kein Gas, die Bouillon behält ihre Alkalinität.

Milch: Man beobachtet reichliches Wachstum der eingesäten Bakterien, die Milch wird nicht koaguliert, der Geruch ist stinkend.

Kartoffeln: Auf diesem Nährboden beobachtet man schon bei Zimmertemperatur ein kräftiges Wachstum. Die Kartoffel wird mit einer Schicht von graugelbem Farbstoff überzogen.

1-proz. Peptonwasser: Gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit in 24 Stunden bei Brutofentemperatur.

Sterilisiertes Leitungswasser: Kein sichtbares Wachstum.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie im vorhergehenden.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob, verliert in letzterem Falle seine Farbe.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen: Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin.

Keine Veränderung des Farbtones bei Zusatz von Ammoniak. Dagegen verändert sich die Farbe in weiß bei Zusatz von Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 51. Schwefelgelbes Bacterium: Staphylococcus, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden, bei einer Temperatur von 19—28°, beobachtet man eine reichliche Entwickelung. Die oberflächlichen Kolonieen sind sehr klein, rundlich und von gelblicher Farbe. Bei schwacher Vergrößerung bemerkt man kleine runde Kolonieen mit gleichmäßigem Inhalt, mit glatten Rändern und von gelblicher Färbung. Sie verflüssigen die Gelatine nicht.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei einer Temperatur von 22°.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, unter Bildung eines schwefelgelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen beobachtet man eine äußerst spärliche Entwickelung.

Traubenzuckerbouillon: Es wird Gas gebildet, die Bouillon verliert ihre Alkalinität nicht.

Milch: Reichliches Wachstum der eingesäten Bakterien, die Milch gerinnt nicht; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Auf diesem Nährboden entwickeln sich die Kulturen sehr kräftig schon bei Zimmertemperatur.

Die Kartoffel wird mit einer stark schwefelgelben Schicht überzogen.

1 proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden keine sichtbare Entwickelung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie im vorhergehenden.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob, verliert im letzteren Falle seine Farbe.

Chemische Reaktionen mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt. Der Farbstoff ist unlöslich und verändert seine Farbe nicht bei Zusatz von Säuren und Laugen.

---

No. 52. Schwefelgelbes Bakterium: Diplococcus. Im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—25° beobachtet man nach 48 Stunden eine mittelmäßige Entwickelung von kleinen runden Kolonieen von gelblicher Farbe.

Bei schwacher Vergrößerung bemerkt man gelbe Kolonieen, deren Inhalt granuliert ist. Die Ränder sind leicht gezähnt.

Gelatinestrichkultur: Entwickelung längs des ganzen Impfstiches bei einer Temperatur von 24°. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum bei gewöhnlicher Zimmertemperatur unter Bildung eines schwefelgelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden beobachtet man keine Trübung der Flüssigkeit.

Traubenzuckerbouillon: Gas wird nicht gebildet, die Bouillon behält ihre Alkalinität.

Milch: Die Milch wird nicht koaguliert; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffel: Reichliches Wachstum bei gewöhnlicher Zimmertemperatur unter Bildung eines intensiv schwefelgelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Keine Trübung der Flüssigkeit.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine sichtbare Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Keine Vermehrung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Terpentin und Benzin.

Der Farbenton bleibt unverändert bei Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure und Schwefelsäure, dagegen verändert sich die Farbe in ein rötliches Gelb bei Zusatz von Salpetersäure.

---

No. 53. Schwefelgelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—24° entwickeln sich nach 48 Stunden kleine runde Kolonieen von gelblicher Färbung.

Bei schwacher Vergrößerung beobachtet man kleine Kolonieen von rundlicher Form mit unregelmäßigen Rändern. Der Inhalt ist fein granuliert, die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum bei Zimmertemperatur unter Bildung eines schwefelgelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen.

Traubenzuckerbouillon: Gas wird nicht gebildet, die Bouillon bleibt alkalisch.

Milch: Die Milch gerinnt nicht, die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffel: Kräftige Entwickelung schon bei Zimmertemperatur. Die Kartoffel wird mit einer schwefelgelben Schicht bedeckt.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Sterilisiertes Leitungswasser: Nach 24 Stunden bemerkt man nur äußerst spärliches Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfurius, Xylol, Terpentin und Benzin.

Man beobachtet keine Veränderung des Farbstoffes bei Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 54. Schwefelgelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 19—26° entwickeln sich in 48 Stunden mäßiggroße Kolonieen von weißlicher Farbe und unregelmäßigen Formen.

Bei schwacher Vergrößerung beobachtet man große Kolonieen mit sehr unregelmäßigen Rändern. Vom Inneren heraus finden radiäre Ausstrahlungen nach den Rändern zu statt.

Die Kulturen sind leicht gelb gefärbt. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Gelatinestichkultur: Wächst entlang des ganzen Impfstiches, ohne die Gelatine zu verflüssigen. Nur an der Oberfläche schwefelgelb.

Agaragar: In 24 Stunden findet bei 25° starkes Wachstum statt unter Produzierung eines schwefelgelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Reichliches Wachstum, gleichmäßige Trübung, ohne Häutchenbildung.

Traubenzuckerbouillon: Keine Gasbildung, Reaktion ziemlich stark sauer.

Milch: Reichliche Entwickelung. Gerinnung unter stinkendem Geruch.

Kartoffel: Bei Zimmertemperatur findet üppiges Wachstum statt unter Bildung eines schwefelgelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Keine Entwickelung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Kein Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Vermehrung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen, bestimmt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin.

Der Farbton bleibt unverändert bei Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 55. Schwefelgelbes Bakterium. Staphylococcus. Im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 18—24° entwickeln sich nach 48 Stunden kleine runde Kolonieen von gelblicher Farbe.

Bei schwacher Vergrößerung sind dieselben klein, rund, mit glatten Rändern und leicht gelb gefärbt.

Gelatinestichkultur: Kräftiges Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei Zimmertemperatur. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen üppiges Wachstum unter Bildung eines schwefelgelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Bei einer Temperatur von 30° C wird die Bouillon in 24 Stunden gleichmäßig und stark getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Es wird kein Gas gebildet. Die Reaktion der Bouillon wird nicht verändert.

Milch: Reichliche Entwickelung; die Milch wird nicht koaguliert, die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffel: Bei gewöhnlicher Zimmertemperatur spärliches Wachstum. Die Kartoffel wird mit einer schmutziggelben Schicht überzogen.

1-proz. Peptonwasser: Gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob und verliert in letzterem Falle seinen Pigmentfarbstoff.

Chemische Reaktionen, mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin.

Man bemerkt keine Veränderung des Farbentones bei Zusatz von Ammoniak, Essigsaure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 56. Schwefelgelbes Bakterium. Diplococcus. Im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Ueppiges Wachstum nach 48 Stunden bei einer Temperatur von 19—26°.

Die oberflächlichen Kolonieen sind rundlich, von unregelmäßigen Formen, von weißlicher Farbe und verflüssigen die Gelatine.

Bei schwacher Vergrößerung sind dieselben rund, leicht gefärbt, mit granuliertem Inhalt, von einem hellen Hof umgeben.

Gelatinestichkultur: Reichliches Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei einer Temperatur von 24°. Sie verflüssigen die Gelatine trichterförmig.

Agaragar: Kräftige Entwickelung in Strichkulturen bei gewöhnlicher Temperatur unter Bildung eines intensiv schwefelgelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen wird die Flüssigkeit gleichmäßig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Ueppige Vermehrung bei Brütofentemperatur. Gasbildung findet statt.

Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Starke Entwickelung. Die Milch wird koaguliert, die Kulturen haben einen fauligen Geruch.

Kartoffel: Auf diesem Nährboden entwickelt sich das Bakterium sehr gut unter Bildung eines schwefelgelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit nach Verlauf von 24 Stunden.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine sichtbare Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie im sterilisierten Leitungswasser.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob, verliert in letzterem Falle seine Farbe.

Chemische Reaktionen, mit frischen Kartoffelkulturen angestellt. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin.

Die Farbe verändert sich nicht nach Zusatz von Laugen uud Säuren.

---

No. 57. Hellgelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—26° entwickeln sich nach 48 Stunden große Kolonieen, leicht gelb gefärbt.

Bei schwacher Vergrößerung sind dieselben groß, unregelmäßig, mit granuliertem Inhalt und ausgezähnten Rändern. In der Mitte sind sie undurchsichtig und werden nach den Rändern zu etwas heller.

Gelatinestichkultur: Reichliche Entwickelung entlang des ganzen Impfstiches bei einer Temperatur von 20°. Die Gelatine wird leicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen wenig Wachstum bei gewöhnlicher Zimmertemperatur unter Hervorbringung eines hellgelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen beobachtet man eine ziemlich starke Trübung der Bouillon. An der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.

Traubenzuckerbouillon: Gasbildung findet nicht statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Reichliche Vermehrung der eingesäten Bakterien. Die Milch wird koaguliert, die Kulturen haben einen stinkenden Geruch.

Kartoffel: Reichliches Wachstum schon bei gewöhnlicher Temperatur unter Bildung eines hellgelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit nach Verlauf von 24 Stunden.

Sterilisiertes Leitungswasser: Nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen beobachtet man keine nennenswerte Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Indol, Terpentin und Benzin.

Auch bemerkt man keinerlei Farbenveränderung nach Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 58. Hellgelbes Bakterium. Diplococcus. Im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—24° entwickeln sich nach 48 Stunden kleine runde Kolonieen von gelblichweißer Farbe, mit leicht unregelmäßigen Rändern.

Bei schwacher Vergrößerung sind dieselben rund, von gelber Farbe, mit gleichmäßigem Inhalt, undurchsichtig und ganz fein ausgezähnten Rändern.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei einer Temperatur von 22°.

Die Gelatine wird an der Oberfläche leicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen mäßiges Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur unter Produzierung eines hellgelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Bei einer Temperatur von 30° wird die Flüssigkeit nach 24 Stunden getrübt. Häutchenbildung konnte nicht beobachtet werden.

Traubenzuckerbouillon: Es findet Gasbildung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Die Milch wird koaguliert, die Kulturen haben einen fauligen Geruch.

Kartoffel: Auf diesem Nährboden entwickelt sich das Bakterium sehr üppig. Die Kartoffel wird mit einer schmutzigweißen Schicht überzogen.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine sichtbare Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie im vorhergehenden.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin.

Der Farbenton verändert sich nicht nach Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure.

---

No. 59. Hell-bernsteingelbes Bakterium. Bacillus im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei 16—20° entwickeln sich in 48 Stunden große runde Kolonieen, mit einem dunkleren Kern im Centrum.

Bei schwacher Vergrößerung ist das Centrum gelb, grobkörnig, nach dem Rande zu blaßt der Farbstoff etwas ab, der Rand selbst hat fadenförmig transparente Ausläufer.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches. An der Oberfläche bernsteingelbe Farbstoffbildung. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Stichkulturen findet ein üppiges Wachstum statt unter Bildung eines blaßgelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden, bei einer Temperatur von 30°, findet sich am Boden ein Bodensatz, die Flüssigkeit ist nicht getrübt.

1-proz. Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt, Lackmuspapier reagiert neutral.

Milch: Reichliche Entwickelung der eingesäten Bakterien, unter Bildung eines fauligen Geruchs. Die Milch wird nicht koaguliert.

Kartoffeln: Reichliche Entwickelung bei Zimmertemperatur. Die Kolonieen erscheinen grauweißlich.

1-proz. Peptonwasser: Im Brütofen wird in 24 Stunden ein reichlicher Niederschlag gebildet. Die Flüssigkeit wird nur schwach getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Es findet nur spärliche Entwickelung statt.

Destilliertes Wasser: Selbst im Brütofen findet nur minimalstes Wachstum statt.

Indol: Beaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob, der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin, und wechselt seinen Farbstoff nicht nach Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 60. Hell-bernsteingelbes Bakterium. Staphylococcus, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Reichliches Wachstum, bei einer Maximaltemperatur von 26° nach 48 Stunden.

Die Kolonieen sind rundlich, bernsteingelb. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben sphärisch, bernsteingelb, mit glattem, gleichförmigem Inhalt und gleichmäßigen glatten Rändern.

Gelatinestichkultur: Bei Zimmertemperatur beobachtet man Wachstum entlang des ganzen Impfstiches, wodurch die Gelatine nicht verflüssigt wird.

Agaragar: In Strichkulturen beobachtet man reichliches Wachstum, wobei die Kolonieen oberflächlich von bernsteingelber Farbe sind.

1-proz. Peptonbouillon: Die Bouillon bleibt klar, nur am Boden findet sich ein Niederschlag.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt, der Nährboden verliert seine Alkalinität, Lackmuspapier reagiert leicht sauer.

Milch: Dieselbe wird koaguliert, und beobachtet man einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Auf einem Nährboden findet schon bei Zimmertemperatur ein äußerst reichliches Wachstum statt. Die Oberfläche der Kolonieen erscheint schmutzig gelbweiß.

1-proz. Peptonwasser: Bei Brütofentemperatur findet in 24 Stunden kein Wachstum statt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie im vorhergehenden.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus ist fakultativ anaërob und veriiert bei Sauerstoffabschluß seine Farbe.

In keinem der früher aufgezählten chemischen Lösungsmittel ist der Farbstoff löslich. Ebensowenig findet eine Farbenveränderung statt nach Zusatz von Ammoniak und den oben erwähnten Säuren.

---

No. 61. Irisierender weißer Bacillus. Im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach Gram.

Gelatineplatten: Reichliche Entwickelung nach 48 Stunden, bei einer Temperatur von 16—26°. Makroskopisch erscheinen die Kolonieen rundlich, weiß und irisierend.

Bei schwacher Vergrößerung haben sie einen gleichmäßigen Inhalt, sind rundlich oder sphärisch und haben einen glatten Rand.

Gelatinestichkultur: Ueppiges Wachstum bei 20°, entlang des ganzen Impfstiches, ohne die Gelatine zu verflüssigen.

Agaragar: Reichliche Vermehrung entlang des Impfstiches, mit weiß irisierender Oberfläche.

1-proz. Peptonbouillon: Bei 30° findet nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen Bodensatzbildung statt. Die Bouillon selbst bleibt klar.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt, die Reaktion bleibt alkalisch.

Milch: Ueppiges Wachstum, keine Koagulation; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Reichliche Entwickelung. Die Kulturen zeigen einen gelblich-grauen Farbstoff.

1-proz. Peptonwasser: Selbst im Brütofen findet keine Entwickelung statt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Reaktion negativ.

Die Kulturen wachsen aërob und anaërob. Die chemischen Reaktionen sind angestellt mit Kartoffelkulturen. Es findet keine Veränderung des Farbstoffes statt, nach Zusatz von Ammoniak und Salpetersäure; dagegen verändert sich das Aussehen der Kulturen nach Zusatz von Essigsäure, Salzsäure und Schwefelsäure. Die Farbe wird milchig-weiß.

In den oben bereits genannten Lösungsmitteln findet keine Auflösung des Farbstoffes statt.

---

No. 62. Irisierender weißer Bacillus. Im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach Gram.

Gelatineplatten: Es findet zwischen 16—20° schon nach 24 Stunden reichliches Wachstum statt. Die Kolonieen sind unregelmäßig ausgebuchtet und zeigen einen bläulichweiß schimmernden Farbenton.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Kolonieen sehr stark grobkörnig, die Ränder sind außerordentlich scharf gezähnt.

Gelatinestichkultur: Trotz starken Wachstums entlang des Impfstiches findet keine Verflüssigung der Gelatine statt.

Agaragar: In Strichkulturen entwickelt sich ein reichlicher Rasen; die Kulturen sind von weißer irisierender Farbe.

1-proz. Peptonbouillon: Es findet eine spärliche Entwickelung statt am Boden des Reagenzglases.

Traubenzuckerbouillon: Gas wird nicht gebildet, die Bouillon ändert die Reaktion nicht.

Milch: In diesem Nährboden findet keine Entwickelung statt.

Kartoffeln: Es findet schon bei Zimmertemperatur kräftiges Wachstum statt, unter Bildung eines graugelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonwassser: Man beobachtet kein Wachstum.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie in den zwei vorhergehenden.

Indol: Reaktion negativ.

Die Kulturen wachsen fakultativ aërob. Der auf Kartoffeln gezüchtete Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin.

Man beobachtet keine Farbenreaktion nach Zusatz von Ammoniak und den verschiedenen genannten Säuren.

---

No. 63. Grünlichgelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—24° entwickeln sich nach 48 Stunden zahlreiche große unregelmäßige Kolonieen, welche die Gelatine intensiv grünlichgelb färben.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben grob gekörnt, mit sehr unregelmäßigen Rändern, mit hellen Streifen, welche die Kolonieen einteilen.

Gelatinestichkultur: Reichliche Entwickelung entlang des ganzen Impfstiches bei 20°. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen üppiges Wachstum schon bei Zimmertemperatur unter Bildung einer dichten grünlichgelben Schicht.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen beobachtet man keine Trübung der Flüssigkeit.

Traubenzuckerbouillon: Eine Gasbildung findet nicht statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

1-proz. Peptonwasser: Keine sichtbare Entwickelung.

Milch: Reichliches Wachstum der eingesäten Bakterien. Die Mich gerinnt, die Kulturen haben einen fauligen Geruch.

Kartoffeln: Auf diesen Nährboden beobachtet man üppiges Wachstum. Die Kartoffel wird mit einer grünlichgelben Schicht überzogen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie im sterilisierten Leitungswasser.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob und verliert seine Farbe. Die chemischen Reaktionen sind mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin.

Man beobachtet keine Veränderung des Farbentones bei Zusatz von Ammoniak. Dagegen verändert sich die Farbe in gelblichweiß bei Zusatz von Essigsäure, Schwefelsäure, Salzsäure und Salpetersäure.

---

No. 64. Grünlichgelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden beobachtet man eine starke Entwickelung von 16—24°. Die Kolonieen sind rund, von grünlicher Färbung.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben rundlich, mit abgerundeten Rändern und körnigem Inhalt.

Gelatinesichkultur: Kräftiges Wachstum entlang des ganzen Impfstiches, bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Sie verflüssigen die Gelatine nicht.

Agaragar: In Strichkulturen vermehren sich die Bacillen in reichlichem Maße bei gewöhnlicher Temperatur, eine undurchsichtige grünlichgelbe Schicht bildend.

1-proz. Peptonbouillon: Reichliche Entwickelung nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen.

Die Flüssigkeit wird stark und gleichmäßig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Es bildet sich Gas. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Die Milch wird koaguliert, die gewachsenen Kulturen haben einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Ueppige Entwickelung bei gewöhnlicher Temperatur. Die Kartoffel wird mit einer grünlichgelben Schicht überzogen.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen beobachtet man Trübung der Flüssigkeit.

Sterilisiertes Leitungswasser: Die eingesäten Bakterien vermehren sich nicht.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Keine Reaktion.

Der Bacillus wächst fakultativ aërob.

Die chemischen Reaktionen sind mit frischen Kartoffelkulturen angestellt.

In Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin ist der Farbstoff unlöslich. Auch beobachtet man keine Veränderung des Farbtones nach Zusatz von Ammoniak, dagegen wird die Farbe gelblichweiß nach Zusatz von Essigsäure, Schwefelsäure, Salzsäure und Salpetersäure.

---

No. 65. Schneeweißes Bakterium. Diplococcus. Im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—24° entwickeln sich an der Oberfläche und in der Tiefe große weiße Kolonieen, mit glatten Rändern. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die oberflächlichen rund, mit gleichförmigem Inhalt von gelblichweißer Farbe. Die tiefer gelegenen sind etwas kleiner, und sind sie intensiver als die oberflächlichen gefärbt. Sie verflüssigen die Gelatine nicht.

Gelatinestichkultur: Ueppige Entwickelung entlang des ganzen Impfstiches bei einer Temperatur von 20°.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum unter Bildung einer schneeweißen Schicht.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen wird die Bouillon stark und gleichmäßig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Gas wird nicht gebildet. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität nicht.

Milch: Die Milch wird nicht koaguliert; die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Auf diesem Nährboden entwickeln sich die Kulturen in reichlichem Maße, eine weiße Schicht mit bläulichen Reflexen bildend.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit wird nach 24 Stunden langem Auf en im Brütofen gleichmäßig getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Trotz Aufenthalt im Brütofen vermehren sich die eingesäten Bakterien nur spärlich.

Destilliertes Wasser: Man beobachtet eine nur spärliche Entwickelung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Die chemischen Reaktionen sind mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt.

Der Farbstoff ist unlöslich in den bereits erwähnten chemischen Reagentien.

Man beobachtet keine Veränderung des Farbtones nach Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 66. Schneeweißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen beweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—26° entwickeln sich nach 48 Stunden zahlreiche große rundliche Kolonieen von weißer Farbe.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben hell, weiß, rund, mit sehr unregelmäßigen Rändern. Die Gelatine wird stark verflüssigt.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches schon bei Zimmertemperatur. Die Gelatine wird trichterförmig verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen entwickeln sich bei gewöhnlicher Temperatur zahlreiche schneeweiße Kolonieen.

1-proz. Peptonbouillon: Reichliches Wachstum und starke Trübung der Flüssigkeit nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen. An der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.

Traubenzuckerbouillon: Gas wird nicht gebildet. Die Bouillon verliert die Alkalinität, Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Kräftige Entwickelung; die Milch gerinnt, die Kulturen haben einen fauligen Geruch.

Kartoffeln: Auf diesem Nährboden entwickeln sich die Bacillen reichlich unter Bildung eines rötlichgelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit nach 48 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen. An der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Kein Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst fakultativ aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. In Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin ist der Farbstoff unlöslich. Man beobachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak und den bereits genannten Säuren.

---

No. 67. Bernsteingelbes Bakterium. Diplococcus, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Reichliches Wachstum von runden, hellgelben Kolonieen nach 48 Stunden, bei einer Temperatur von 16—24°.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben gelblich, mit gekörntem Inhalt. Die Ränder sind ganz fein ausgezähnt.

Gelatinestichkultur: Entwickelung entlang des ganzen Impfstiches bei 23°. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: Reichliches Wachstum bei gewöhnlicher Zimmertemperatur unter Hervorbringung eines bernsteingelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen wird die Flüssigkeit gleichmäßig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Die Milch wird koaguliert, die Kulturen haben einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Reichliche Vermehrung bei gewöhnlicher Temperatur, die Kartoffel mit einer bernsteingelben Schicht bedeckend.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden ist die Flüssigkeit gleichmäßig getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Nach 24 Stunden beobachtet man eine äußerst spärliche Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Man beobachtet ein nur spärliches Wachstum.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst fakultativ aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. In keinen der bereits genannten chemischen Reagentien ist der Farbstoff löslich, auch beobachtet man keinerlei Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 68. Bernsteingelbes Bakterium. Diplococcus, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 17—26° große runde Kolonieen von hellgelber Färbung.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben gelblich mit körnigem Inhalt und glatten Rändern.

Gelatinestichkultur: Reichliches Wachstum bei einer Temperatur von 20°. Sie verflüssigen die Gelatine nicht.

Agaragar: In Strichkulturen beobachtet man üppiges Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur unter Produzierung eines bernsteingelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Man beobachtet eine gleichförmige Trübung der Bouillon nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen.

Traubenzuckerbouillon: Es findet Gasbildung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagier sauer.

Milch: Die Milch wird koaguliert, die Kulturen haben einen fauligen Geruch.

Kartoffeln: Kräftige Entwickelung bei normaler Temperatur unter Bildung eines schmutziggelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit wird nach 24 Stunden getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet eine äußerst spärliche Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.

Indol: Keine Reaktion.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob und verliert in letzterem Falle seinen Pigmentfarbstoff.

Chemische Reaktionen, mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt. Der Farbstoff ist unlöslich in Alhohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Auch beobachtet man keinerlei Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak, Essigsäure, Schwefelsäure, Salzsäure und Salpetersäure.

---

No. 69. Gelbliches Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—24°, entwickeln sich nach 48 Stunden an der Oberfläche große runde Kolonieen. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben fasernförmig, in der Mitte undurchsichtig, von gelblicher Farbe, von einem hellen Ring umgeben.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur. Die Gelatine wird in Form eines Trichters verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen entwickeln sich die Bakterien reichlich, den Agaragar mit einem gelblichweißen Ueberzug bedeckend.

1-proz. Peptonbouillon: Die eingesäten Bakterien entwickeln sich reichlich bei einer Temperatur von 26°, und beobachtet man nach 24 Stunden eine gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit.

Traubenzuckerbouillon: Es wird kein Gas gebildet. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität. Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Ueppige Entwickelung. Die Milch gerinnt, die Kulturen haben einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Auf diesem Nährboden entwickeln sich die Bakterien sehr gut, die Kartoffel mit einer gelblichweißen Schicht überziehend.

1-proz. Peptonwasser: Reichliche Entwickelung und gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet nach 24 Stunden nur eine spärliche Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Die Bakterien entwickeln sich nicht.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst fakultativ aërob und anaërob.

Die chemischen Reaktionen sind mit frischen Kartoffelkulturen angestellt.

Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Man beobachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak und verschiedenen Säuren.

---

No. 70. Hellgrünes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 17—27° kleine runde Kolonieen von grünlicher Färbung.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben hell, mit gleichförmig gekörntem Inhalt und unregelmäßigen Rändern.

Gelatinestichkultur: Bei 20° beobachtet man Wachstum entlang des ganzen Impfstiches. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen entwickeln sich die Bakterien reichlich bei Zimmertemperatur, unter Bildung eines hellgrünen Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen beobachtet man keine Trübung der Bouillon.

Traubenzuckerbouillon: Es wird kein Gas gebildet, die Bouillon behält ihre Alkalinität.

Milch: Reichliches Wachstum; die Milch wird nicht koaguliert, die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Auf diesem Nährboden vermehren sich die Kulturen reichlich, die Kartoffel mit einer gelblichgrauen Schicht bedeckend.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden erscheint die Flüssigkeit vollständig ungetrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine sichtbare Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Keine Vermehrung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst fakultativ aërob und anaërob und verliert in letzterem Falle seine Farbe.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist nicht löslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin, auch beobachtet man keinerlei Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak, Essig-, Salz-, Schwefel- und Salpetersäure.

---

No. 71. Wachsweißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Reichliche Entwickelung von großen, weißen, unregelmäßigen Kolonieen nach 48 Stunden bei einer Temperatur von 16—25°.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Kolonieen weißlich, undurchsichtig, mit sehr unregelmäßigen Rändern. Sie verflüssigen die Gelatine stark.

Gelatinestichkulturen: Ueppige Vermehrung entlang des ganzen Impfstiches bei 20° nach 48 Stunden. Die Gelatine wird an der Oberfläche verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliche Entwickelung bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, unter Bildung einer dichten, weißen Schicht.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden bei Brütofentemperatur erscheint die Bouillon gleichmäßig getrübt. An der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt, die Bouillon verliert ihre Alkalinität. Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Ueppiges Wachstum der eingesäten Bakterien, die Milch wird koaguliert; die Kulturen haben einen fauligen Geruch.

Kartoffeln: Reichliche Entwickelung bei Zimmertemperatur, unter Produzierung eines schwachen Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden Brütofentemperatur wird die Flüssigkeit gleichförmig getrübt und bildet sich an der Oberfläche ein Häutchen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet eine nur spärliche Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus ist fakultativ aërob und anaërob.

Die chemischen Reaktionen sind mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt.

Der Farbstoff ist unlöslich in den bereits erwähnten chemischen Reagentien; auch beobachtet man keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak, Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure.

---

No. 72. Goldgelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden beobachtet man eine reichliche Entwickelung von sehr großen, sehr unregelmäßigen, schmutziggelben Kolonieen bei einer Temperatur von 17—28°.

Bei schwacher Vergrößerung sieht man große gelbliche Kolonieen mit faserigem Inhalt und unregelmäßigen Rändern, von denen sich eine hellere, durchsichtige Zone absondert, welche sich über die Gelatine erstreckt, ohne sie jedoch zu verflüssigen, wie das Uebrige der Kolonie es thut.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Die Gelatine wird leicht verflüssigt und zwar in Form eines Trichters.

Agaragar: In Strichkulturen beobachtet man bei gewöhnlicher Temperatur üppiges Wachstum, unter Bildung eines gelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Die Flüssigkeit wird nach 24 Stunden Aufenthalt im Brutofen stark und gleichmäßig getrübt. Man beobachtet eine Häutchenbildung an der Oberfläche.

Traubenzuckerbouillon: Es wird kein Gas gebildet, die Bouillon verliert ihre Alkalinität nicht.

Milch: Reichliches Wachstum; die Milch gerinnt nicht, die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Reichliches Wachstum bei Zimmertemperatur, unter Hervorbringung eines grünlich-grauen Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit wird nach 24 Stunden Aufenthalt im Brutofen unter Häutchenbildung an der Oberfläche gleichmäßig getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Kein sichtbares Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Vermehrung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. In Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin ist der Farbstoff unlöslich, auch beobachtet man keinerlei Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak, dagegen wird die Farbe weißlich-gelb nach Zusatz von Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure.

---

No. 73. Milchweißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—24° entwickeln sich nach 48 Stunden große, weiße, knotige Kolonieen, die im Innern milchig-weiß sind und die Gelatine sehr stark verflüssigen.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben im Centrum dunkel, mit abgerundeten Rändern und dickflüssigem Inhalt, von wo aus feine Fäserchen von hellerer Farbe ausgehen.

Gelatinestichkultur: Entwickelung entlang des ganzen Impfstiches nach 48 Stunden bei 22°. Die Gelatine wird in Form eines Trichters verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum bei Zimmertemperatur. Der Agaragar wird milchig-weiß verfärbt.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Brutofentemperatur beobachtet man eine vollkommene Trübung der Bouillon.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Ueppiges Wachstum; die Milch wird koaguliert, die Kulturen haben einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Starke Entwickelung, die Kartoffel mit einer milchig-weißen Schicht überziehend.

1-proz. Peptonwasser: Gleichmäßige Trübung der Flüssigkeit nach 24 Stunden Aufenthalt im Brutofen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet nach 24 Stunden ein äußerst spärliches Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst fakultativ aërob.

Die chemischen Reaktionen sind mit frischen Kartoffelkulturen festgestellt.

Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Man beobachtet keinerlei Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 74. Orangegelbes Bakterium. Coccus, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 16—25° kleine runde Kolonieen mit gelblichen Reflexen.

Bei schwacher Vergrößerung sieht man kleine runde Kolonieen von gelblicher Farbe und gleichförmigem Inhalt, welche die Gelatine nicht verflüssigen.

Gelatinestichkultur: Entwickelung entlang des ganzen Impfstiches bei 23°. Im Stichkanal farbloses Wachstum, oberflächlich orangegelb.

Agaragar: Reichliches Wachstum in Strichkulturen bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung eines stark orangegelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen beobachtet man eine kaum merkliche Trübung der Bouillon.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt, die Bouillon bleibt alkalisch.

Milch: Die Milch gerinnt nicht, die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Auf diesem Nährboden entwickeln sich die Bakterien sehr stark unter Bildung eines orangegelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden bei Brutofentemperatur beobachtet man keine sichtbare Trübung des Wassers.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Keine Vermehrung.

Indol: Keine Reaktion.

Der Bacillus ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in den bereits erwähnten Lösungsmitteln. Der Farbstoff ändert seine Farbe in weiß bei Zusatz von Ammoniak, Essig-, Salz-, Schwefel- und Salpetersäure.

---

No. 75. Rosa-Hefe, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 16—25° kleine, runde, oberflächliche Kolonieen, welche der Gelatine einen rosigen Reflex geben.

Bei schwacher Vergrößerung beobachtet man vereinzelte oder zusammenhängende kleine, gelbliche Kolonieen mit gleichförmigem Inhalt and glatten Rändern.

Gelatinestichkultur: Entwickelung entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur, ohne daß die Gelatine verflüssigt wird.

Agaragar: In Strichkulturen kräftiges Wachstum, unter Produzierung eines rosa Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen ist die Bouillon gleichförmig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Es wird kein Gas gebildet, die Bouillon bleibt alkalisch.

Milch: Reichliches Wachstum, ohne die Milch zu koagulieren, die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Reichliche Vermehrung, die Kartoffel mit einem rosa Ueberzug bedeckend.

1-proz. Peptonwasser: Keine sichtbare Entwickelung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Kein Waehstum.

Destilliertes Wasser: Keine Vermehrung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob und verliert in letzterem Falle seine Farbe

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. In keinem dieser Lösungsmittel ist der Farbstoff löslich. Man beobachtet keine Veränderung des Farbentones bei Zusatz von Ammoniak und Essigsäure, dagegen wird die Farbe citronengelb bei Zusatz von Salpetersäure, schmutziggelb bei Zusatz von Salzsäure und rötlichgrau bei Zusatz von Schwefelsäure.

---

No. 76. Hellgelbes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 17—27 entwickeln sich nach 48 Stunden große, unregelmäßige, verschwommene Kolonieen, welche im Centrum undurchsichtig sind.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben dunkel gefärbt, undurchsichtig, im Centrum und dem Außenrand zu wird das Gelb heller und erhalten sie ein irisierendes

Aussehen durch strahlenförmige Filamente, die davon ausgehen. Die Gelatine wird verflüssigt.

Gelatinestichkultur: Reichliches Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur, die Gelatine trichterförmig verflüssigend.

Agaragar: In Strichkulturen üppiges Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung eines hellgelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen beobachtet man eine gleichförmige Trübung der Flüssigkeit.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt, die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Starke Entwickelung der eingesäten Bakterien, die Milch gerinnt, die Kulturen sind stinkend.

Kartoffeln: Starke Vermehrung bei gewöhnlicher Temperatur, die Kartoffel mit einer schmutziggelben Schicht bedeckend.

1-proz. Peptonwasser: Nachdem die Flüssigkeit 24 Stunden im Brütofen gestanden hat, beobachtet man eine gleichmäßige Trübung derselben.

Sterilisiertes Leitungswasser: Hier entwickeln sich die Bakterien nicht.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob, verliert in letzterem Falle seine Farbe.

Die chemischen Reaktionen sind mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Bei Zusatz von Ammoniak, Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure wird die Farbe weiß.

---

No. 77. Stark gelbes Bakterium. Staphylococcus, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 16—26° zahlreiche kleine Kolonieen von weißlicher Farbe.

Bei schwacher Vergrößerung beobachtet man an der Oberfläche runde, grobgekörnte Kolonieen mit glatten Rändern von weißlicher Färbung.

Gelatinestichkultur: Bei Zimmertemperatur beobachtet man Wachstum entlang des ganzen Impfstiches. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur unter Bildung eines stark gelben Pigmentfarbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen erscheint die Bouillon stark getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt. Die Bouillon bleibt alkalisch.

Milch: Die Kulturen sind geruchlos, die Milch wird nicht koaguliert.

Kartoffeln: Auf diesem Nährboden entwickeln sich die Bakterien in reichlichem Maße unter Hervorbringung eines stark gelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Das Wasser ist nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen gleichmäßig getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet ein äußerst spärliches Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Vermehrung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob, verliert in letzterem Falle seine Farbe.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in den öfters erwähnten chemischen Reagentien, auch beobachtet man keine Veränderung des Farbentones bei Zusatz von Ammoniak, Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure.

---

No. 78. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 18—26° entwickeln sich nach 24 Stunden zahlreiche, kleine, unregelmäßig geformte Kolonieen von weißer Farbe.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben unregelmäßig und verschwommen, fest im Centrum mit unregelmäßigen Rändern und von undurchsichtiger Farbe.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum bei Zimmertemperatur, den Agaragar mit einer weißen Schicht bedeckend.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen bleibt die Bouillon vollständig klar.

Traubenzuckerbouillon: Gasbildung findet nicht statt, die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Starke Vermehrung, die Milch gerinnt, die Kulturen haben einen fauligen Geruch.

Kartoffeln: Reichliches Wachstum, unter Bildung einer weißen, etwas flüssigen Schicht mit bläulichen Reflexen.

1-proz. Peptonwasser: Wie in der Bouillon, beobachtet man auch hier keine Entwickelung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet nur eine spärliche Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie im Vorhergehenden.

Indol: Keine Reaktion.

Der Bacillus wächst fakultativ aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, bestimmt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin, auch beobachtet man keinerlei Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 79. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach Gram.

Gelatineplatten: Nach 24 Stunden beobachtet man bei einer Temperatur von 16—25° einige kleine, weiße, rundliche Kolonieen. Bei schwacher Vergrößerung beobachtet man weißliche Kolonieen mit gekörntem Inhalt und unregelmäßig ausgezackten Rändern.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei Zimmertemperatur. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum schon bei Zimmertemperatur unter Bildung eines weißen Belages.

1-proz. Peptonbouillon: Die Bouillon bleibt ungetrübt, nur am Boden findet sich ein Bodensatz von neu gewachsenen Bakterien.

Traubenzuckerbouillon: Gas wird nicht gebildet, die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Ueppiges Wachstum, die Milch gerinnt, die Kulturen sind stinkend.

Kartoffeln: Reichliche Vermehrung bei gewöhnlicher Temperatur unter Bildung eines graugelben Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit erleidet keine Trübung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Kein Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin, auch beobachtet man keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak und den verschiedenen Säuren.

---

No. 80. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 24 Stunden beobachtet man bei einer Temperatur von 16—26° Kolonieen mit sehr unregelmäßigen, ausgefaserten Rändern von weißer Farbe. Die an der Oberfläche befindlichen sind groß, die in der Tiefe gelegenen sind kleiner und mehr rundlich.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die oberflächlichen groß, von weißlicher Farbe, mit sehr unregelmäßigen Rändern. Sie verflüssigen die Gelatine. Die tiefer gelegenen sind klein, abgerundet, ebenfalls mit unregelmäßigen Rändern.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches nach 48 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur. Die Gelatine wird in Form eines Trichters verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum schon bei Zimmertemperatur unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbuillon: Die Bouillon wird trotz 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen nicht getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Es wird kein Gas gebildet. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert leicht sauer.

Milch: Reichliche Entwickelung, die Milch wird koaguliert, die Kulturen haben einen fauligen Geruch.

Kartoffeln: Auf diesem Nährboden entwickeln sich die Bakterien reichlich, schon bei Zimmertemperatur, unter Bildung eines gelblich weißen Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit bleibt ungetrübt, doch bildet sich ein Bodensatz von Bakterien.

Sterilisiertes Leitungswasser: Mäßige Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Reaktion positiv.

Der Bacillus wächst fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Man beobachtet keine Veränderung des Farbentons nach Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 81. Weißes Bakterium. Diplococcus, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden entwickelt sich bei einer Temperatur von 18—24° eine große Anzahl runder Kolonieen von weißlicher Farbe.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben rund, mit gleichförmigem Inhalt und glattem Rand.

Gelatinestichkultur: Entwickelung entlang des Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum bei Zimmertemperatur, unter Bildung einer weißen Schicht.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brütofen beobachtet man eine üppige Entwickelung der eingesäten Bakterien. Die Bouillon wird stark getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Gasbildung findet nicht statt, die Bouillon behält ihre Alkalinität.

Milch: Die Milch wird nicht koaguliert, die Kulturen sind geruchlos.

Kartoffeln: Reichliche Entwickelung bei Zimmertemperatur. Die Kartoffel wird mit einer bläulich weißen Schicht bedeckt.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit erscheint nach 24 Stunden gleichmäßig getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet eine nur spärliche Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin; auch beobachtet man keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak, Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure.

---

No. 82. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich; entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—27° entwickeln sich nach 48 Stunden kleine unregelmäßige Kolonieen von weißer Farbe.

Bei schwacher Vergrößerung sind dieselben klein, mit stark unregelmäßigen, ausgefaserten Rändern.

Gelatinestichkultur: Entwickelung entlang des ganzen Impfstiches bei 21°, ohne die Gelatine zu verflüssigen.

Agaragar: In Strichkulturen starke Vermehrung bei Zimmertemperatur, unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Die Bouillon bleibt trotz 24-stündigen Aufenthalts im Brütofen vollständig klar.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt; die Bouillon verliert die Alkalinität, Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Reichliche Vermehrung, die Milch gerinnt, die Kulturen haben einen fauligen Geruch.

Kartoffeln: Reichliches Wachstum bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, unter Produzierung eines grünlich grauen Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit erleidet keine Trübung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine sichtbare Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie im vorhergehenden.

Indol: Keine Reaktion.

Der Bacillus ist fakultativ aërob.

Chemische Reaktionen mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt. In Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin ist der Farbstoff unlöslich. Man beobachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 83. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden bei einer Temperatur von 16—28° beobachtet man eine nur spärliche Entwickelung von kleinen runden weißen Kolonieen.

Bei schwacher Vergrößerung sind dieselben sehr unregelmäßig undurchsichtig, mit ausgefaserten Rändern.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei 18°. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliche Entwickelung bei Zimmertemperatur, unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen beobachtet man eine üppige Vermehrung. Die Flüssigkeit ist stark getrübt, an der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.

Traubenzuckerbouillon: Es findet keine Gasbildung statt, die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert stark sauer.

Milch: Ueppige Entwickelung, die Milch wird koaguliert, die Kulturen haben einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Reichliches Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur; die Kartoffel wird mit einer weißen Schicht bedeckt.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen wird die Flüssigkeit vollständig getrübt. An der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine sichtbare Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus ist fakultativ aërob.

Die chemischen Reaktionen sind angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in den schon erwähnten chemischen Reagentien; auch beobachtet man keine Veränderung des Farbtones nach Zusatz von Ammoniak und den verschiedenen Säuren.

---

No. 84. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 24 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 16—24° zahlreiche runde Kolonieen, welche die Gelatine in ihrer ganzen Ausdehnung stark verflüssigen.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben hell, durchsichtig, mit sehr unregelmäßigen Rändern und gekörntem Inhalt, umgeben von einer helleren Aureole.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei 21°. Die Gelatine wird trichterförmig verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen üppige Entwickelung bei Zimmertemperatur, unter Produzierung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen beobachtet man eine starke Vermehrung, unter gleichförmiger Trübung der Flüssigkeit. An der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.

Traubenzuckerbouillon: Reichliches Wachstum. Gasbildung findet nicht statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität. Lackmuspapier reagiert sauer.

Milch: Reichliche Entwickelung, die Milch gerinnt, die Kulturen haben einen fauligen Geruch.

Kartoffel: Ueppiges Wachstum bei Zimmertemperatur, unter Bildung eines grauen Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit wird nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen, unter Häutchenbildung an der Oberfläche, stark und gleichförmig getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet kein sichtbares Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen: Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Man beobachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak, Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure.

---

No. 85. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 24 Stunden beobachtet man bei einer Temperatur von 16—24° eine mäßige Entwickelung von weißen runden, oberflächlichen Kolonieen.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben gelblich weiß, mit gleichförmigem Inhalt und glatten Rändern. Sie verflüssigen die Gelatine.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur. Die Gelatine wird in Form eines Trichters verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum bei Zimmertemperatur unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon. Trotz Aufenthalts im Brütofen bleibt die Bouillon ungetrübt, nur am Boden ist ein Sediment von Bakterien.

Traubenzuckerbouillon: Es wird kein Gas gebildet, die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Die Milch wird koaguliert, die Kulturen sind stinkend.

Kartoffeln: Ueppiges Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur, die Kartoffel wird mit einer milchweißen Schicht überzogen.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit erleidet keine Trübung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Kein Wachstum.

Destilliertes Wasser: Verhält sich wie im vorhergehenden.

Indol: Reaktion positiv.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Die chemischen Reaktionen sind mit frischen Kartoffelkulturen angestellt. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Man beobachtet keinerlei Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak, Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure.

---

No. 86. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—28° beobachtet man nach 48 Stunden zahlreiche kleine runde Kolonieen von weißer Farbe.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben gelblich, rund, mit gleichförmigem Inhalt und unregelmäßigen Rändern. Sie verflüssigen die Gelatine.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur. Die Gelatine wird trichterförmig verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliche Vermehrung bei Zimmertemperatur, unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden Aufenthalt im Brütofen ist die Bouillon unter Häutchenbildung an der Oberfläche gleichförmig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Gasbildung findet statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert stark sauer.

Milch: Kräftige Entwickelung. Die Milch wird koaguliert, die Kulturen haben einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Ueppige Vermehrung bei gewöhnlicher Temperatur, die Kartoffel wird mit einer weißen Schicht bedeckt.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit erscheint nach 24 Stunden gleichförmig getrübt. An der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Kein Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Vermehrung.

Indol: Keine Reaktion.

Der Bacillus ist fakultativ aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Auch beobachtet man keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak und verschiedenen Säuren.

---

No. 87. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 16—27° einige oberflächliche Kolonieen von weißer Farbe.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben undurchsichtig und gelblich im Centrum, heller an der Oberfläche durch dicke gekreuzte Filamente, mit unregelmäßigen Rändern.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur. Die Gelatine wird verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Trotz Aufenthalts im Brütofen erleidet die Bouillon keine Trübung, nur am Boden findet man einen Bakterienniederschlag.

Traubenzuckerbouillon: Es wird Gas gebildet. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Die Milch gerinnt, die Kulturen sind stinkend.

Kartoffeln: Reichlich Wachtum bei gewöhnlicher Temperatur. Die Kartoffel sind mit einer weißen Schicht überzogen.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit erleidet keine Trübung.
Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet keine sichtbare Entwickelung.
Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.
Indol: Reaktion negativ.
Der Bacillus wächst aërob und anaërob.
Chemische Reaktionen mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Man beobachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 88. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.
Gelatineplatten: Nach 24 Stunden bemerkt man bei einer Temperatur von 16—27° einzelne kleine unregelmäßige, oberflächliche Kolonieen von weißlicher Farbe.
Bei schwacher Vergrößerung beobachtet man kleine unregelmäßige Kolonieen mit grobgekörntem Inhalt und unregelmäßigen Rändern.
Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei Zimmertemperatur. Die Gelatine wird in Form eines Trichters verflüssigt.
Agaragar: In Strichkulturen üppige Vermehrung bei gewöhnlicher Temperatur, unter Produzierung eines weißen Belags.
1-proz. Peptonbouillon: Reichliche Vermehrung nach 24-stündigem Aufenthalt im Brütofen. Die Bouillon wird stark und gleichförmig getrübt, an der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.
Traubenzuckerbouillon: Starke Entwickelung. Gasbildung findet nicht statt, die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.
Milch: Ueppiges Wachstum; die Milch wird koaguliert, die Kulturen haben einen fauligen Geruch.
Kartoffeln: Reichliches Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung eines graugelben Farbstoffes.
1-proz. Peptonwasser: Nach 24 Stunden im Brütofen ist die Flüssigkeit gleichförmig getrübt. An der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.
Sterilisiertes Leitungswasser: Kein sichtbares Wachstum.
Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.
Indol: Reaktion negativ.
Der Bacillus wächst aërob und anaärob.
Chemische Reaktionen mit frischen Kartoffelkulturen bestimmt.
Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin, auch beobachtet man keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak-, Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure.

---

No. 89. Weißes Bakterium: Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.
Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—28° beobachtet man nach 48 Stunden kleine, weiße, runde Kolonieen.
Bei schwacher Vergrößerung bemerkt man zahlreiche runde Kolonieen, mit gleichförmig gekörntem Inhalt und ganz glatten Rändern.
Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.
Agaragar: In Strichkulturen üppige Vermehrung bei gewöhnlicher Temperatur, unter Hervorbringung eines weißen Belags.
1-proz. Peptonbouillon: Die Bouillon bleibt trotz 24-stündigen Aufenthalts im Brütofen vollständig klar und am Boden findet Vermehrung der Bakterien statt.
Traubenzuckerbouillon: Es wird kein Gas gebildet, die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert sauer.
Milch: Kräftige Entwickelung der eingesäten Bakterien, die Milch wird koaguliert, die Kulturen sind stinkend.
Kartoffeln: Reichliches Wachstum schon bei Zimmertemperatur unter Bildung eines gelblichen Farbstoffes.
1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit erleidet keine Trübung.
Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet keine Entwickelung.
Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.
Indol: Reaktion negativ.
Der Bacillus ist fakultativ aërob.
Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. In Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin ist der Farbstoff unlöslich, man be-

obachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak und den verschiedenen bereits genannten Säuren.

---

No. 90. Weißes Bakterium: Kurzstäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nicht nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—26° entwickeln sich nach 48 Stunden nur wenige oberflächliche, kleine, weiße, unregelmäßige Kolonieen.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben sehr unregelmäßig, durchsichtig, durch nach dem Centrum zulaufende Segmente gebildet, welche ihnen das Aussehen eines Rades geben. Die Ränder sind stark unregelmäßig.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches, bei 17°, ohne die Gelatine zu verflüssigen.

Agaragar: In Strichkulturen kräftige Entwickelung bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen beobachtet man einen leichten Bodensatz.

Traubenzuckerbouillon: Reichliche Vermehrung. Es bildet sich Gas; die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Die Milch gerinnt, die Kulturen sind stinkend.

Kartoffeln: Kräftige Entwickelung schon bei Zimmertemperatur. Die Kartoffel wird mit einer weißen Schicht bedeckt.

1-proz. Peptonwasser: Das Wasser erleidet keine Trübung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine sichtbare Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Reaktion positiv.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin, auch beobachtet man keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 91. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden bei einer Temperatur von 17—28° Entwickelung von sehr kleinen weißen Kolonieen.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben klein, fast durchsichtig, unregelmäßig, mit gekörntem Inhalt und ungleichmäßigen Rändern.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen üppige Entwickelung bei Zimmertemperatur, unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen erscheint die Flüssigkeit gleichförmig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Reichliches Wachstum, Gasbildung findet nicht statt, die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Ueppige Vermehrung, die Milch wird koaguliert, die Kulturen sind stinkend.

Kartoffeln: Reichliches Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung eines gelblichen Farbstoffes.

1-proz. Peptonwasser: Das Wasser wird nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen gleichförmig getrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine sichtbare Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Keine Reaktion.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Man beobachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak, Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure.

---

No. 92. Weißes Bakterium: Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 18—26° entwickeln sich nach 48 Stunden große, unregelmäßige oberflächliche Kolonieen von intensiv weißer Farbe.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben dunkler im Centrum, nach dem Rande zu heller werdend. Die Ränder sind stark unregelmäßig.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei 24°. Die Gelatine wird stark in Form eines Trichters verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliches Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Trotz 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen ist die Bouillon nur am Boden getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Gasbildung findet nicht statt. Die Bouillon bleibt alkalisch.

Milch: Reichliches Wachstum, die Milch gerinnt nicht, die Kulturen haben einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Reichliche Entwickelung bei gewöhnlicher Zimmertemperatur unter Bildung eines etwas flüssigen weißen Belags.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit erleidet keine Trübung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Keine Vermehrung.

Indol: Reaktion positiv.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Man beobachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Laugen und Säuren.

---

No. 93. Weißes Bakterium: Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen lebhaft beweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden beobachtet man bei einer Temperatur von 16—28° eine nur spärliche Entwickelung von kleinen weißen runden Kolonieen.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben weißlich, undurchsichtig, mit gekörntem Inhalt und schlichten Rändern.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen üppige Entwickelung bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Reichliche Entwickelung nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen. Die Bouillon erscheint stark und gleichförmig getrübt; an der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.

Traubenzuckerbouillon: Reichliches Wachstum, keine Gasbildung. Die Bouillon bleibt alkalisch.

Milch: Starke Vermehrung, die Milch gerinnt nicht, die Kulturen haben einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Kräftige Entwickelung schon bei Zimmertemperatur, die Kartoffel mit einer weißen Schicht bedeckend.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit erscheint nach 24-stündigem Aufenthalt im Brütofen stark getrübt. An der Oberfläche bildet sich ein Häutchen.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet eine nur spärliche Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Keine sichtbare Vermehrung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in den bereits erwähnten chemischen Reagentien, man beobachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak-, Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure.

---

No. 94. Weißes Bakterium. Diplococcus, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Nach 48 Stunden entwickeln sich bei einer Temperatur von 19 bis 26° zahlreiche kleine, weiße, runde Kolonieen, welche die Gelatine stark verflüssigen.

Bei schwacher Vergrößerung erscheinen dieselben groß, sehr unregelmäßig, von schmutziggelber Farbe, von unregelmäßigen Segmenten umgeben, welche unter sich verwachsen sind. Sie verflüssigen die Gelatine in ihrer ganzen Ausdehnung.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei Zimmertemperatur. Die Gelatine wird rapide in Form eines Trichters verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen üppiges Wachstum, unter Hervorbringung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24 Stunden langem Aufenthalt im Brütofen beobachtet man eine starke Entwickelung und eine gleichförmige Trübung der Bouillon.

Traubenzuckerbouillon: Gasbildung findet nicht statt, die Bouillon bleibt alkalisch.

Milch: Die Milch wird nicht koaguliert, die Kulturen haben einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Reichliche Entwickelung bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung eines weißen Belags mit bläulichen Reflexen.

1-proz. Peptonwasser: Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brütofen erscheint die Flüssigkeit gleichförmig getrübt.

Sterilisiertes Wasser: Keine sichtbare Entwickelung.

Destilliertes Wasser: Kein Wachstum.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Man beobachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak und den verschiedenen Säuren.

---

No. 95. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 20—28° entwickelt sich in 48 Stunden eine nur spärliche Anzahl Kolonieen.

Makroskopisch und mikroskopisch erscheinen dieselben sehr ähnlich denen des Karbunkels.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei gewöhnlicher Temperatur. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen reichliche Entwickelung bei Zimmertemperatur, unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Bei Aufenthalt im Brütofen wird die Bouillon nur am Boden getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Gasbildung findet nicht statt. Die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Die Milch gerinnt, die Kulturen sind stinkend.

Kartoffeln: Reichliches Wachstum bei Zimmertemperatur, unter Bildung eines grauen Farbstoffes.

1-proz. Peptonbouillon: Die Flüssigkeit erleidet keine Trübung.

Sterilisiertes Leitungswasser: Keine sichtbare Vermehrung.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.

Indol: Reaktion negativ.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Man beobachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak, dagegen verändert sich die Farbe in milchweiß nach Zusatz von Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure.

---

No. 96. Weißes Bakterium. Kurzes Stäbchen, im hängenden Tropfen unbeweglich, entfärbt sich nach der Methode von Gram.

Gelatineplatten: Bei einer Temperatur von 16—24° entwickeln sich nach 48 Stunden oberflächliche, fast durchsichtige Kolonieen von weißer Farbe mit glatten Rändern., während die tiefer gelegenen rund und dunkler sind.

Mikroskopisch erscheinen dieselben rund, mit gleichförmigen Inhalt. Sie verflüssigen die Gelatine stark.

Gelatinestichkultur: Wachstum entlang des ganzen Impfstiches bei 19°. Die Gelatine wird an der Oberfläche leicht verflüssigt.

Agaragar: In Strichkulturen üppige Entwickelung bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung eines weißen Belags.

1-proz. Peptonbouillon: Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brütofen entwickeln sich die Bakterien reichlich. Die Bouillon wird stark und gleichförmig getrübt.

Traubenzuckerbouillon: Gasbildung findet nicht statt, die Bouillon verliert ihre Alkalinität, Lackmuspapier reagiert schwach sauer.

Milch: Kräftige Entwickelung, die Milch wird koaguliert, die Kulturen haben einen stinkenden Geruch.

Kartoffeln: Reichliches Wachstum, schon bei Zimmertemperatur, unter Bildung einer weißen Schicht.

1-proz. Peptonwasser: Die Flüssigkeit bleibt ungetrübt.

Sterilisiertes Leitungswasser: Man beobachtet kein sichtbares Wachstum.

Destilliertes Wasser: Keine Entwickelung.

Indol: Reaktion positiv.

Der Bacillus wächst aërob und anaërob.

Chemische Reaktionen, angestellt mit frischen Kartoffelkulturen. Der Farbstoff ist unlöslich in Alkohol, Aether sulfuricus, Xylol, Terpentin und Benzin. Man be-

obachtet keine Veränderung des Farbentones nach Zusatz von Ammoniak-, Essig-, Schwefel-, Salz- und Salpetersäure.

---

Wir wollen hiermit die Reihe der im Leitungswasser der Buenos Aires-Wasserleitung gefundenen Bakterien schließen, es soll damit nicht gesagt sein, daß nun sämtliche darin vorkommende Arten beschrieben seien, indes dürften es die häufigeren sein. Erwähnt mag nur noch werden, daß außer den genannten Arten noch vorkamen Bacillus lactaricius, prodigiosus und violaceus, die gelegentlich auch isoliert werden konnten.

Es mag überraschen, daß so viel Arten gefunden sind, aber wenn man bedenkt, wie unvollständig das Wasser filtriert wird, daß manchmal 2000 Keime und mehr im Kubikcentimeter vorhanden waren, so wird es verständlich, daß so viele verschiedene angetroffen wurden.

---



# Bakteriologischer Befund im Eiter eines gashaltigen Abscesses.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Zürich.]

Von Dr. **A. Rodella**, Assistenten am Institute.

Mit 1 Tafel.

Das Studium über die gaserzeugenden Bakterien hat in der letzten Zeit erhöhtes Interesse gewonnen. In diesem Jahre sind in der deutschen Litteratur schon 5 Arbeiten darüber mir bekannt geworden. Anlaß zu der vorliegenden Mitteilung gab die Untersuchung von einem Eiter, welcher mir von der chirurgischen Klinik zugeschickt wurde. Derselbe war von brauner Farbe, sehr stinkend und es entwickelten sich viele Luftblasen. Bevor ich das Nähere über die Eiteruntersuchung mitteile, glaube ich zweckmäßig über das Klinische zu berichten. An dieser Stelle sei es mir vergönnt, Herrn Prof. Dr. U. Kroenlein, Direktor der chirurgischen Klinik, für die Ueberlassung des Materials und der Krankengeschichte meinen besten Dank auszusprechen.

O. J., 26 Jahre alt, stud. med. Am Abend des 30. Mai dieses Jahres glitt Pat. auf der Straße aus und zog sich dabei eine leichte Kontusion am linken Knie zu. Beim Ausziehen bemerkte Pat. unterhalb der verletzten Stelle an der Innenseite des linken Unterschenkels eine leichte Sugillation, die auf Druck schmerzhaft war. Am folgenden Morgen war die Stelle bereits gerötet und fühlte sich härter und wärmer als die Umgebung an. Beim Gehen traten starke Schmerzen auf. In den nächsten Tagen nahm die Schwellung zu, blieb aber cirkumskript, kaum handtellergroß. Darüber leichte Rötung mit dunkelblau verfärbtem Centrum. Die Schmerzhaftigkeit beim Gehen nahm so zu, daß Pat. am 4. Juni die chirurgische Poliklinik aufsuchte. Dort wurde eine Schwellung an der Innenseite des linken Unterschenkels etwa 2 cm unterhalb des Kniegelenkes von ca. Handtellergröße konstatiert. Die Haut darüber war gespannt, diffus blaurot verfärbt, im Centrum eine erbsengroße Stelle dunkelblau-schwarz. In der Umgebung der Schwellung Spuren von älteren Sugillationen. Bei der Palpation fühlt sich die Schwellung wärmer als die Umgebung an, läßt sich ziemlich gut abgrenzen; im Centrum ist in der Tiefe Fluktuation zu fühlen, die übrigen Partieen fühlen sich hart an. Die Palpation ist Pat. äußerst schmerzhaft. Am übrigen Unterschenkel ist nirgends Schwellung zu bemerken, nirgends Varicen. Die linken Inguinaldrüsen sind leicht geschwollen, aber nur bei starkem Druck empfindlich. In der Haut über die linke Patella eine bereits vernarbte kleine Kontusion.

Pat. erhält in der Poliklinik einen feuchten Verband. Auf der Abteilung Bettruhe, Hochlagerung des linken Beines.

Da nun deutliche Fluktuation vorhanden war und Pat. über zunehmende Schmerzen klagte, wurde unter Cocainanästhesie incidiert. Schon am folgenden Tage secernierte die Wunde kaum mehr.

Drei Tage darauf verließ Pat. das Krankenhaus. Nachdem sie aber ohne Schmerzen herumgegangen war, stellten sich plötzlich am Abend des folgenden Tages wieder heftige Schmerzen am linken Oberschenkel ein und gleichzeitige geringe Temperatursteigerung. Pat. wurde deshalb wieder ins Spital aufgenommen. Die Wunde sah normal aus, war aber schmerzhafter als bei der Entlassung. Von der Wunde an aufwärts an der Innenseite des linken Oberschenkels, dem Verlauf der Vena saphena magna entsprechend, eine sackartige Anschwellung. Die Haut darüber livid verfärbt. Bei der Palpation fühlte sich die geschwollene Partie heiß und hart an, nirgends Fluktuation nachzuweisen. Die leiseste Berührung des linken Oberschenkels der Pat. äußerst schmerzhaft. Linke Inguinaldrüsen stark geschwollen, auch Cruraldrüsen zu fühlen. Am unteren Schenkel nirgends Schwellung. Pat. klagt gleichzeitig auch über leichte Schmerzen in der linken Mamma. An der schmerzhaften Stelle ist eine leichte Infiltration zu fühlen. Die Schmerzen in der linken Mamma waren nach 4 Tagen spontan verschwunden. Unter Bettruhe und feuchten Verbänden war nach genannter Zeit Pat. so gut geheilt, daß sie das Krankenhaus verlassen konnte. Nachdem Pat. etwa 8 Tage ohne jegliche Beschwerden umhergegangen war, traten am 28. Juni plötzlich Schmerzen im linken Vorderarm auf, die aber bald spontan zurückgingen. Dafür stellten sich heftige Schmerzen in den Bauchdecken der Ileocöcalgegend und gleichzeitig auch in der linken Brustdrüse ein. In den folgenden Tagen bildete sich an den schmerzhaften Stellen eine harte Infiltration unter zunehmenden Schmerzen und erhöhter Temperatur. Die Affektion in der Ileocöcalgegend ging indes, trotzdem Pat. umherging, spontan zurück, anfänglich nahm auch die Infiltration der linken Mamma wieder ab, steigerte sich dann aber nach einer leichten Anstrengung beim Baden (am 6. Juli) rasch, dabei traten heftige ausstrahlende Schmerzen im ganzen linken Arm ein, so daß Pat. am 7. Juli wieder die chirurgische Poliklinik aufsuchte, wo ihr ein feuchter Verband angelegt wurde. Dennoch nahmen Schmerzen und Schwellung zu, weshalb Pat. am 9. Juli wieder zur Aufnahme kam. Die linke Mamma war im ganzen Umfang vergrößert, namentlich aber an der Innenseite. Die Schwellung breitete sich auch gegen die Umgebung aus, namentlich nach der Axillar- und Claviculargegend. Haut über der Schwellung gespannt, aber nicht gefärbt. Die Schwellung fühlte sich sehr hart an, nirgends war aber Fluktuation nachweisbar. Schmerzempfindlichkeit bei der Palpation namentlich an der Innenseite der Mamma. Die Schwellung der linken Brustdrüse nimmt bald zu und in der Tiefe war am folgenden Tage Fluktuation nachweisbar. Es wurde eine Incision unter Aethernarkose vorgenommen.

Der Eiter wurde mit der begleitenden Diagnose „Phlegmone mit Gasbildung“ ins hygienische Institut geschickt; die Untersuchung ergab folgendes. Direkter mikroskopischer Befund: Sehr viele Mikroorganismen, Kokken, Kurzstäbchen und längere, an den Enden zugespitzte, spießförmige Bakterien.

Kulturelles. In Agarbouillonserum: Kokken in Diplo- und Streptoanordnung, vereinzelte Kolonieen von Staphyloc. pyogenes aureus und von Bacterium coli commune, Klumpen von spießförmigen Stäbchen, welche nicht an der Oberfläche, sondern in der Bouillon und in der Tiefe des Agars wachsen.

Tierversuche. Zwei intramuskulär mit Eiter geimpfte Meerschweinchen sind nach 3 Tagen gestorben, zwei subkutan infizierte Mäuse sind am Leben geblieben.

Es wurde auch aus der rechten Vena cubitalis mediana Blut zur bakteriologischen Untersuchung entnommen. Die damit geimpften Bouillon- und Agarkulturen blieben aber steril.

Am 31. Juli wurde Pat. zu allseitiger Besserung aufs Land geschickt. Am 6. August tritt Pat. ins Spital wieder ein mit starken Schmerzen in der linken Regio infra-clavicularis, welche sehr geschwollen und hochgradig druckempfindlich war. Leichte Dyspnoë. Pat. sah sehr schlecht aus und klagte über Schmerzen bei der Respiration. Dämpfung über der linken hinteren Lungenpartie mit Kompressions-

phänomenen. Die Probepunktion ergab eine von Flocken leicht getrübte, seröse, geruchlose Flüssigkeit. Am 12. August wurde eine Incision parallel den Pectoralisfasern unter der Clavicula vorgenommen. Unter den Muskeln Pectoralis majus und minor fand man einen Absceß, welcher einen stark stinkenden, grauen, mit Luftblasen durchsetzten Eiter enthielt. Die Absceßhöhle war kleinapfelgroß, überall gut begrenzt.

Beginnende Thrombose im linken Arm mit Fieber und hochgradigen Schmerzen. Abends Schüttelfrost. Die Dämpfung in der linken Pleura ging zurück und mit spontaner Entleerung einer großen Menge Eiter durch die granulierende Wunde ist die Temperatur allmählich auf die Norm zurückgegangen. Pat. wnrde, da der Arm nicht mehr geschwollen war und die Schmerzen fast verschwunden und die Wunde sauber granulierend aussah, 17 Tage nach der Operation unter Ambulantenkontrolle entlassen.

In dem am 12. August mir zugeschickten Eiter konnte ich mikroskopisch folgende Mikroorganismen nachweisen: Kokken in kurzen und langen Ketten und vereinzelt. Bacillen mit zugespitzten Enden, Bacillen von mittlerer Größe und Länge und mit abgerundeten Enden, plumpe, dicke Bacillen mit endständiger, ovaler Spore (Fig. 1).

Die mit dem Eiter geimpften Tiere blieben am Leben. Sie zeigten nur ein lokales Oedem mit grauroter Verfärbung der Haut, waren etwas krank, erholten sich aber bald vollkommen.

### Isolierungs- und Züchtungsmethoden.

Um die im Eiter enthaltenen Mikroorganismen zu isolieren, habe ich mich der aëroben und anaëroben Verfahren bedient. Das für die Aërobe in Betracht kommende Verfahren war das gewöhnliche Agar- und Gelatine-Plattenverfahren. Es gelang mir sehr leicht, zwei Mikroorganismen zu isolieren, von denen ich einen mit Bestimmtheit als zu der Coli-Gruppe, den anderen zu den Streptokokken gehörend klassifizierte. Um die anaëroben Mikroorganismen zu isolieren, bediente ich mich der in einer früheren Arbeit bereits mitgeteilten Methode, d. h. die Ueberimpfung des Materials im verflüssigten Agar- und Gelatineröhrchen, welche bei einer Temperatur von 80° einige Minuten lang (2—5 Minuten) aufbewahrt wurden. An dieser Stelle möchte ich das an anderen Orten von mir schon Mitgeteilte bestätigen, nämlich, daß das anaërobe Plattenverfahren, selbst wenn es gelänge, ein ideales zu finden, nach meiner Meinung kein tadelloses Resultat liefern kann. In der That wuchs auf den Aërobenplatten der Coli-Bacillus so üppig, daß eine Ueberwucherung desselben vorauszusehen war, besonders wenn man an das Wachstum des von mir weiter unten als zweiter Anaërob-Mikroorganismus denkt. Wenn man anaërobe Platten gegossen hätte ohne Erwärmung des Materials, wäre die Ausbeute gewiß eine viel geringere gewesen als die durch die oben genannte Methode erzielte. Selbstverständlich muß man gleichzeitig auch mit unerwärmtem Material anaërobe Kulturen anlegen, was auch in diesem Falle geschah; die Erwärmung des Materials erleichtert aber die Isolierung vieler Arten wesentlich. Den in meiner ersten Arbeit erwähnten Uebelstand, daß man oft, wenn man die Kolonieen von oben heraus nicht bekommen kann, das Reagenzglas zerbrechen muß, habe ich vermieden, indem ich die anaëroben Agarkulturen in eine Centrifuge mit der Oeffnung des Röhrchens nach unten, hineinstellte. Nach einigen Sekunden war gewöhnlich der Agar schon bis zur Oeffnung des Röhrchens gekommen. Dann wurde der Wattepfropfen weggenommen, der Rand des Reagenzglases an der Flamme sterilisiert, der obere Teil des Röhrchens ein wenig erwärmt, so daß der Agar durch den vermehrten Luftdruck in eine sterilisierte Petri-Schale hinein-

gedrückt wurde. Dr. Burri[1]) hat zur Isolierung der Anaëroben in hohen Schichten einen besonderen Apparat konstruiert, welcher aus einem auf beiden Seiten geöffneten Röhrchen und aus einem Gummistöpsel besteht. Trotzdem wir nicht leugnen, daß diese Burri-Röhrchen sehr zweckmäßig sind, glauben wir doch, daß man ebenso gut mit der oben erwähnten Methode zum Ziele kommt. Um die isolierten Anaëroben zu züchten, habe ich mich der meisten bekannten Methoden bedient, hauptsächlich aber der Buchner'schen und Arens'schen, die ich folgendermaßen modifiziert habe. Buchner giebt bekanntlich an, für Stichkulturen nur 20 ccm 3-proz. Kalilaugelösung und einen Kaffeelöffel Pyrogalluslösung. Für Plattenkulturen verwendet Arens einen breiten Exsikkator mit aufgeschliffenem Deckel und füllt den unteren Teil mit Kies und Pyrogallussäuremischung. Für Kulturen in Reagenzgläsern füllte ich nun das Röhrchen so, daß das Reagenzglas die obere Fläche der Flüssigkeit nur wenige Centimeter überragte. Das Röhrchen wurde sodann mit einem Gummipfropfen verschlossen. Auch sehr strenge Anaëroben kommen in diesem Röhrchen zum Wachstum, da der in dem kleinen Raum enthaltene Sauerstoff vollständig resorbiert wird. Ungefähr auf dieselbe Weise verfuhr ich für das anaërobe Plattenverfahren, indem ich den Exsikkator fast ganz mit der Pyrogallussäuremischung füllte. Um die Platten vor Anfüllung mit Pyrogallussäure zu schützen, stellte ich dieselben in ein Glas, welches bis fast zum oberen Rand in der Mischung stand. Der Exsikkator wurde sodann mit einem Deckel abgeschlossen. Was die Kulturen in flüssigem Nährboden anbetrifft, so habe ich mich der von Trenkmann angegebenen Methode bedient, des Zusatzes von Schwefelnatrum zu Bouillon. Es wurden 10—20 Tropfen 1-proz. sterilisierter Lösung pro Röhrchen verwendet. Beide beschriebenen Anaëroben wuchsen in dieser Flüssigkeit gut.

Andere Methoden, wie die Ueberimpfung der anaëroben Bacillen in Filtraten von Aëroben habe ich nicht probiert. Sonderbarerweise haben die Autoren, die sich damit beschäftigten, gar nicht übereinstimmende Resultate erzielt. Während Matzuschita[2]) behauptet, daß die Anaëroben in abgetöteten Aërobenbouillonkulturen sich nicht vermehren, fand Silberschmidt[3]), daß häufig auch strenge Anaëroben sowohl in Filtraten wie in abgetöteten Aërobenkulturen ganz gut wachsen können. Die durch die oben angegebene Methode isolierten und weiter gezüchteten Mikroorganismen bezeichnen folgende Eigenschaften.

## Reinkulturen der isolierten Anaërobenarten.

No. 1. Stäbchen, welche meist gerade, gewöhnlich mit einer Spore und einer Aufschwellung in der Mitte. Seltener ist die Spore endständig (Fig. 2). Auf festen Nährböden findet man freie Sporen in Mehrzahl. Lebhafte Eigenbewegung, Färbbarkeit gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben und auch nach Gram. Die Sporenfärbung gelingt sehr leicht in heißer Fuchsinlösung. Das Wachstum erfolgt bei Brut- und Zimmertemperatur.

---

1) Burri, Zur Isolierung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902. April.)

2) Matzuschita, Zur Physiologie der Sporenbildung der Bacillen, nebst Bemerkungen zum Wachstum einiger Anaëroben. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIII. 1902.)

3) Silberschmidt, W., Bakteriologisches über einige Fälle von „Gangrène foudroyante“ von Phlegmone und von Tetanus beim Menschen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLI. Heft 3.)

Agarplatten. Mit bloßem Auge sind die Kolonieen nach 2 Tagen schon sehr gut sichtbar; sie zeigen ein dunkles, kompaktes Centrum mit einem hellen Hofe. Bei schwacher Vergrößerung sieht man ein Gewirr von geschlängelten Ausläufern, welche von einem dichten Centrum ausgehen.

Agarstich. Das Wachstum erfolgt 1—2 cm unter der Oberfläche flaschenbürstenförmig. Die einzelnen Kolonieen sind am Rande des dicken Stiches an ihrem watteähnlichen Aussehen zu erkennen (Fig. 4).

Im flüssig geimpften und nachher erstarrten Agar, wenn nur einige Kolonieen zur Entwickelung kommen, können dieselben die Größe einer Erbse erreichen. Bei demselben sind dann die schönen geschlängelten Ausläufer am besten zu erkennen. Gasentwickelung findet auch in gewöhnlichem Agar statt, allerdings nur in spärlichem Grade (Fig. 6).

Agarstrich (anaërob). Das Wachstum erfolgt längs des ganzen Striches und verbreitet sich in 3—4 Tagen fast auf der ganzen Agaroberfläche. Die Kultur zeigt ein farnkrautähnliches Aussehen, der Belag ist aber sehr dünn, nur stellenweise angeschwellt. Das Kondenswasser bleibt klar mit einem weißen, nicht spärlichen Bodensatz (Fig. 5).

Gelatinestich. Das Wachstum erfolgt ziemlich rasch im unteren Teile des Röhrchens in 2—3 Tagen. Am 2. Tage sieht man schon längs des Stiches getrennte, kleine Kolonieen, die am folgenden Tage schon deutliche Verflüssigung zeigen. Letztere erfolgt in Form eines eingeführten Schlauches, und in 4—5 Tagen ist der untere Teil der Gelatine vollständig verflüssigt (Fig. 7). In flüssig geimpfter und nachher erstarrter Gelatine sehen die isolierten Kolonieen aus wie dunkle Punkte, umgeben von trüben runden Höfen von verflüssigter Gelatine (Fig. 8).

Bouillon (anaërob). In 2 Tagen Trübung mit reichlichem Bodensatz. Zuckerbouillon auch Trübung und Gasentwickelung.

Milch (anaërob), wird binnen 2 Tagen vollständig peptonisiert. In der anaëroben Milch wächst dieser Mikroorganismus gar nicht.

Serum. Stichkultur in geraden Serumröhrchen bringt dasselbe binnen 3 Tagen zur vollständigen Verflüssigung im unteren Teile des Röhrchens. In späterer Zeit werden auch die oberen Teile, aber nicht vollständig, verflüssigt. Deutliche Gasentwickelung, welche aber ziemlich kurz dauert.

Sämtliche Kulturen haben einen sehr üblen Geruch, welcher in der Serumkultur am ausgesprochensten ist.

Die Pathogenität. Für die Tierversuche wurde Bouillon, Agar und das verflüssigte Serum verwendet. Die subkutane Injektion rief keine anderen Symptome hervor als ein geringes Oedem, am wirksamsten waren die verflüssigten Serumkulturen. Intraperitonealinjektion mit den gewöhnlichen Kulturen hatte keinen Erfolg, nur das verflüssigte Serum konnte eine kleine Auftreibung des Abdomens zustande bringen.

No. 2. Schlanke, lange und gerade Stäbchen mit abgerundeten Enden. Manchmal kann dieser Bacillus eine sehr beträchtliche Länge aufweisen, so daß derselbe fast fadenförmig erscheint. Bei manchen Exemplaren findet man eine oval bis rundliche Spore am einen Ende (Fig. 3). Die Eigenbewegung ist sehr lebhaft und findet in allen Richtungen statt. Färbbarkeit mit allen Anilinstoffen gut, gelingt auch nach Gram; wenn man aber etwas stärker entfärbt, zeigen sich die Bacillen entweder ganz blaß oder lassen nur hier und da einige gefärbte Punkte erscheinen, während die übrigen Teile farblos sind. Wachstum bei Brut- und Zimmertemperatur. Agarplatten: Die Entwickelung der Kolonieen geht

sehr langsam vor sich. Nach 4—5 Tagen sehen dieselben unter dem Mikroskop wie kleine kompakte, homogene Punkte aus, welche im Laufe der Zeit (8—11 Tage) die Größe eines kleinen Stecknadelkopfes erreichen können.

Agarstich. Das Wachstum erfolgt nach 4—5 Tagen 1—2 mm unter der Oberfläche längs des ganzen Stiches in nicht sehr homogener Form. Aus dem Stich heraus gehen einige sehr kurze, unregelmäßige Strahlen, welche dem Stiche die Figur eines Wollfadens geben (Fig. 9). In flüssig geimpftem und nachher erstarrtem Agar sehen die Kolonieen punktförmig aus, erreichen in 10 Tagen ihren größten Umfang von der Größe ganz kleiner Sandkörnchen.

Gelatinestich. Die kleinen, rundlichen Kolonieen sind in diesen Kulturen weit voneinander getrennt. Das Wachstum erfolgt sehr langsam und der Stich ist erst in 7—8 Tagen deutlich sichtbar (Fig. 10). Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Gasbildung ist in der verflüssigt geimpften und nachher erstarrten Gelatine nicht vorhanden, wie überhaupt in allen Kulturen dieses Mikroorganismus nicht (Fig. 11).

Bouillon. Das Wachstum erfolgt nach 2—3 Tagen mit einer Trübung, die hauptsächlich in den unteren Teilen des Röhrchens wahrnehmbar ist; dasselbe erfolgt ebenso gut in Bouillon nach Trenkmann wie in anderen anaëroben Bouillonkulturen.

Milch (anaërob), bleibt unverändert.

Serum wird nicht verflüssigt.

Für die üblichen Laboratoriumstiere war dieser Mikroorganismus nicht pathogen.

Es handelte sich also in unserem Falle um eine Mischinfektion, wobei eine große Anzahl von Mikroorganismen beteiligt waren. Nicht alle in direkten Präparaten gefundenen Bakterien konnten isoliert und in Reinkultur gezüchtet werden. Es sei erwähnt, daß die spießförmigen Bacillen (Bacilles fusiformes), welche bereits von verschiedenen Autoren in Eiter gefunden wurden[1]), weder von Dr. Silberschmidt, welcher die erste Eiteruntersuchung vornahm, noch von mir in den späteren Untersuchungen nach der zweiten Operation in Reinkultur gezüchtet werden konnten. Dieselben waren jedoch in dem von mir untersuchten Eiter in sehr geringer Zahl vorhanden, wie aus dem direkten Präparat ersichtlich; andererseits kommt in unserem Falle der Gesamtzahl bezw. der großen Verschiedenheit der Mikrobenarten und nicht dieser oder jener einzelnen Art eine Bedeutung zu.

Die Frage der Eiterbildung braucht hier nicht besonders erörtert zu werden, da in diesem Falle auch die gewöhnlichen Eitererreger sich vorfanden.

Durch meine Untersuchung glaube ich auch die Gasbildung in dem Eiter bezw. in dem Abscesse zur Genüge erklärt zu haben. In der That war bei dem zuerst beschriebenen Anaëroben die Gasbildung auch in zuckerfreien Nährböden zeitweise eine ziemlich üppige. Die Frage, ob Bacterium coli commune in ähnlichen Fällen auch Gas erzeugen kann, hat bis jetzt keine Entscheidung gefunden. Daß in Diabetikern genannter Mikroorganismus die Eigenschaft der Gasbildung zukommt, scheint durch die Untersuchungen von Chiari, Bunge u. A. nachgewiesen zu sein.

---

1) Vide auch v. A. W. Silberschmidt. Cbl. f. Bakt. I. Abt. 1901.

Aron Sandler[1]), gestützt hauptsächlich auf die Untersuchungen von Muscatello, sagt: „es sei bewiesen, daß es eine in dem Gewebe gasentwickelnde Varietät des Bacterium coli giebt, und die Gasentwickelung auch ohne bestehenden Diabetes erfolgt, daß jene Fähigkeit dem Bakterium bei längerer Kultivierung außerhalb des Körpers verloren geht“.

Wir haben einige Tierversuche gemacht, um die Frage der Gasbildung experimentell nachzuprüfen. 2 Meerschweinchen wurden $1^1/_2$ ccm einer 20-stündigen Bouillonkultur des von uns aus dem Eiter isolierten Bacterium coli intramuskulär injiziert. Beide Tiere gingen am folgenden Tage zu Grunde; bei der Sektion fand man ein blutiges, sulziges, stinkendes, durch den ganzen Unterkörper sich erstreckendes Oedem ohne Spuren von Gasbildung.

Auch ein mit einer Mischkultur des aus dem Eiter isolierten Bact. coli und Streptococcus vorgenommener Tierversuch fiel negativ aus. Das Meerschweinchen bekam nach den Angaben Muscatello's eine sehr kleine Menge der Mischkultur intramuskulär an der hinteren rechten Pfote und wurde dann mit einem Seidenfaden am Oberschenkel verbunden. Am folgenden Tage war der Faden aufgefressen. Es trat Eiterung ein; nach einiger Zeit erholte sich aber das Meerschweinchen und konnte dann ganz gut laufen.

Weitere Versuche haben wir vorgenommen durch intramuskuläre Injektionen mit den zwei beschriebenen Anaëroben sowohl in Reinkultur als mit den aus dem Eiter gezüchteten aëroben Mikroorganismen.

Das Resultat war stets ein negatives.

Und keinen besseren Erfolg hatte ich durch Impfung einiger Meerschweinchen mit frischem und mit einige Zeit lang im Eisschrank aufbewahrtem Eiter. Ich muß aber leider gestehen, daß die Tierversuche mit dem frischen Eiter nur subkutan vorgenommen wurden und diejenigen mit dem aufbewahrten Eiter nicht einwandsfrei waren, da der oder die im Tier bezw. im menschlichen Körper gaserzeugenden Mikroorganismen während der Zeit der Aufbewahrung hätten zu Grunde gehen können.

Dadurch wird die Möglichkeit zugegeben, daß auch andere nicht isolierte Mikroorganismen im Eiter vorhanden waren. Ein jeder, der sich mit Anaëroben beschäftigte, wird diese Möglichkeit leicht begreifen, um so mehr, wenn man daran denkt, wie viele Arten in diesem Falle zu isolieren waren.

Daß übrigens eine experimentelle Entscheidung der Frage der Gasbildung wenig aussichtsvoll sei, geben die meisten Autoren zu.

Die jetzt erwähnten Versuche führen uns unwillkürlich zu der Besprechung der Entstehungsweise des Abscesses in unserem Falle. Es drängt sich uns die Frage auf, ob es sich wirklich in demselben um einen Gasabsceß gehandelt hat oder nicht.

Die Notwendigkeit einer scharfen Trennung der Gasabscesse von den Abscessen mit Gas hat in letzter Zeit v. Schrötter hervorgehoben.

Unter den ersteren sollte man die durch gleichzeitige Infektion mit den Eitererregern und mit den gasbildenden Mikroorganismen hervorgerufenen Abscesse verstehen, bei diesen soll eben die Gasbildung eine

1) Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. 1902. Daselbst die diesbezügliche Litteratur.

primäre sein. Abscesse mit Gas sollen dagegen diejenigen sein, bei denen die Gasbildung durch die Einwanderung gasproduzierender Saprophyten in einen schon längere Zeit entstandenen Eiterherd erfolgt.

Ob diese Klassifikation, welche vom theoretischen Standpunkt aus berechtigt erscheinen kann, so leicht und streng durchführbar ist, wie auch Aron Sandler zu meinen scheint, möchte ich bezweifeln.

Aetiologisch scheint uns dieselbe, solange wir nicht besser über die Erreger der Gasbildung und über die Bedingungen, unter welchen diese letztere vor sich geht, orientiert sind, wenigstens verfrüht.

Wir wissen in der That heutzutage mit Sicherheit nicht einmal das, ob es wirklich, um einen Gasabsceß hervorzurufen, Anaëroben, sei es allein oder in Gemeinschaft mit Aëroben, absolut erforderlich sind.

Ohne uns aber in zu viele theoretische Erörterungen einzulassen, genügt es uns, die kurz mitgeteilten Bemerkungen gemacht zu haben.

Was unseren Fall anbetrifft, so wissen wir leider über das Bakteriologische des wenigen bei der ersten Incision herausgeflossenen Eiters gar nichts.

Der Eiter, welcher aus der 2. Operation stammte, wurde auf Anaëroben nicht speziell untersucht; wir haben den diesbezüglichen Bericht schon an anderem Orte mitgeteilt. Gasbildung war damals schon vorhanden und die klinische Diagnose lautete: Phlegmone mit Gasbildung.

Ob das Fehlen der primären Gasbildung dem Fehlen der lokalen Bedingungen für das Auftreten derselben oder der Abwesenheit der gasproduzierenden Mikroorganismen, welche später hinzugekommen waren, zuzuschreiben sei, können wir natürlich nicht angeben. Daß prädisponierende Momente für das Vorkommen ähnlicher Krankheitsprozesse nötig sind, geben die meisten Autoren zu; welche aber dieselben sein sollen, ist noch ziemlich unbekannt.

Die vielen interessanten Einzelheiten der Krankengeschichte, hauptsächlich die sehr geringe ursprüngliche Eiterung, das nicht gewöhnliche Aussehen der Wunde u. s. w., neigen uns zur Meinung, daß es sich in diesem Falle schon primär nicht um die gewöhnlichen Eitererreger allein gehandelt hat.

---

**Erklärung der Abbildungen.**

Fig. 1. Direktes Ausstrichpräparat von dem frischen Eiter. Fuchsinfärbung.

Fig. 2. Ausstrichpräparat aus einer 4-tägigen Bouillonkultur des Bacillus No. 1. Sporenfärbung in heißer Fuchsinlösung, Grundierung mit Loeffler'schem Methylenblau.

Fig. 3. Ausstrichpräparat aus einer 2-tägigen Bouillonkultur des Bacillus No. 2. Fuchsinfärbung.

Fig. 4. 5-tägige Agarstichkultur des Bacillus No. 1.

Fig. 5. 4-tägige anaërobe Agarstrichkultur des Bacillus No. 1.

Fig. 6. 5-tägige flüssig geimpfte Agarreinkultur des Bacillus No. 1.

Fig. 7. 4-tägige Gelatinestichkultur des Bacillus No. 1.

Fig. 8. 3-tägige flüssig geimpfte Gelatinereinkultur des Bacillus No. 1.

Fig. 9. 3-tägige Agarstichkultur des Bacillus No. 2.

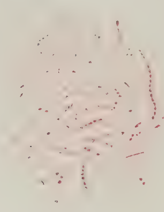
Fig. 10. 5-tägige Gelatinestichkultur des Bacillus No. 2.

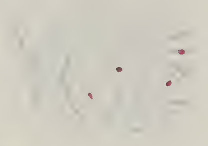
Fig. 11. 10-tägige flüssig geimpfte Gelatinereinkultur des Bacillus No. 2.

Vergrößerung der mikroskopischen Präparate 500 : 1 Koristka, $^1/_{12}$ Imm. Ok. 2 mit ausgezogenem Tubus. Herr L. Schröter in Zürich hat die Zeichnungen mit Camera ausgeführt.

Die photographischen Aufnahmen wurden von Herrn R. Schlatter gemacht.

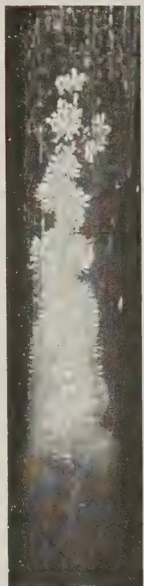
---


1

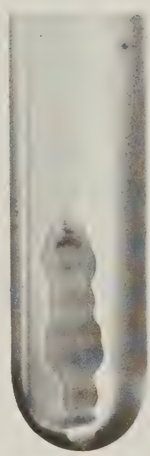

2

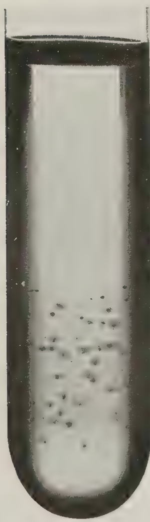

3

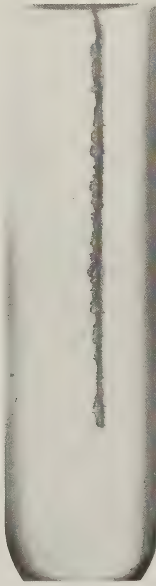

4

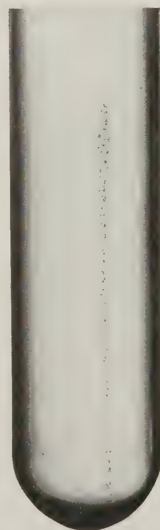

5

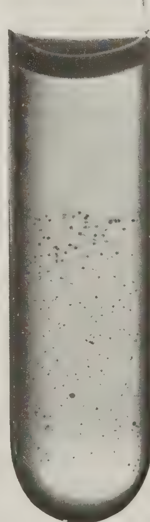

6


7


8


9


10


11

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

*Nachdruck verboten.*

# Meerschweinchenepizootie, durch eine Varietät des Colibacillus verursacht.

[Aus dem Institute für Seuchenlehre der kgl. ung. tierärztl. Hochschule zu Budapest (Leiter: Prof. Dr. F. Hutyra).]

Von **Karl Kovárzik,** kgl. ung. Tierarzt, em. Assistenten des Institutes.

In neuerer Zeit wurden bei den zum Tierexperimente so häufig in Anspruch genommenen Meerschweinchen mehrere, teils sporadische, teils epidemische Infektionskrankheiten bekannt.

Außer der so häufigen Coccidiose ist die Pfeiffer'sche Pseudotuberkulose allgemein bekannt, welche seit Pfeiffer (1) auch Ledoux-Lebard, Abel u. A. beobachtet haben. Tartakowsky (2) beschreibt eine Erkrankung der Luftwege der Meerschweinchen, Strada und Traina (3) entdeckten eine infektiöse Lungenkrankheit; Weber (4) wies als Ursache einer Epizootie einen Diplococcus nach, Stefansky (5) einen Streptococcus lanceolatus; Perroncito, Galli-Valerio (6) erkannten Flagellaten als Infektionserreger. Eine kleinere Epidemie beschreibt M. Phisalix, bei welcher der Bacillus pyocyaneus nachgewiesen wurde. Bac. pulmonum glutinosus verursacht nach Martini (7) eine Lungenentzündung der Meerschweinchen. Kürzlich beschrieb Lochmann (9) einen neuen, für Mäuse und Meerschweinchen pathogenen Vertreter der Coli-Gruppe mit Rücksicht auf die durch den Bacillus erzeugte Veränderung der Milch unter dem Namen Bac. caseolyticus. Der Mikrobe wurde aus den inneren Organen bei vier Meerschweinchen isoliert. Weiterhin weist die einschlägige Litteratur noch Notizen auf von Delbanco (8), Gorini u. A. Häufig findet man endlich bei Meerschweinchen die spontane Tuberkulose.

Im Verlaufe des Monats Dezember 1900 wurde in der Meerschweinchenzucht des Institutes eine Erkrankung beobachtet, welcher sämtliche Tiere zum Opfer gefallen sind. In demselben Zimmer befanden sich auch Kaninchen, teils frei, teils als geimpfte Versuchstiere in Käfigen, weiter weiße und graue Mäuse in Gläsern, sowie Tauben. Die Tiere pflegte ein und derselbe Bedienstete. Die Meerschweinchen konnten selbst durch die sofort ausgeführte Desinfektion und Trennung nicht mehr gerettet werden. Diese Hausepidemie bot uns Gelegenheit, eine — in der Litteratur als Infektionskrankheit bisher noch nicht erwähnte — Meerschweinchenerkrankung zu studieren.

Klinisch wurden folgende Symptome beobachtet: Die Tiere zogen sich mit gekrümmtem Rücken in eine Ecke des Käfigs zurück, wurden von Schüttelfrost befallen und waren zu einer Bewegung nur schwer zu veranlassen. Einer 2-tägigen Koprostase folgte profuse Diarrhöe. Die perianale Gegend ist stets mit Faeces beschmutzt. Die Kranken magern augenscheinlich ab, in den letzten Tagen wird der hintere Körperteil mehr geschleppt und die hinteren Extremitäten zeigen eine lähmungsartige Schwäche. Das Haar ist gesträubt, die Atmung oberflächlich, die Temperatur subnormal (36,0—35,5° C).

Die Sektion wurde in allen Fällen womöglich sogleich nach dem Tode, spätestens nach einigen Stunden, ausgeführt. Die Sektionsergeb-

nisse waren kurz folgende: Konstant waren vorhanden grauweißliche, nekrotische Herde, je nach der Dauer der Krankheit punktförmig oder bedeutend größer, an der Oberfläche der Leber und Milz, seltener in der Tiefe des Parenchyms derselben stets hyperämischen Organe. Der Dünndarm war mit von Gasbläschen durchsetztem gelblichem, mehr flüssigem Brei gefüllt; in der Bauchhöhle seröser Erguß von nicht bedeutender Menge. Gallenblase und Harnblase sind stets prall gefüllt.

Aus der Leber und der Milz — als aus den die auffallendsten Veränderungen zeigenden Organen — wurden unter Beobachtung aller bakteriologischen Kautelen Kulturen angelegt. Die Kolonieen der gewonnenen Reinkulturen boten ein Kurzstäbchen, es finden sich aber auch kokkenähnliehe Individuen vor. Die Stäbchen sind an den Enden abgerundet, färben sich leicht und gut mit allen Anilinfarben und werden nach Gram entfärbt.

In Aufstrichpräparaten aus den Organen ist der Bacillus meist isoliert, zuweilen paarig angeordnet, nicht selten sind auch eingeschnürte Individuen, während Fäden nicht beobachtet worden sind. Sporenbildung fehlt; die Entwickelung in der Tiefe der Nährböden deutet auf fakultative Anaërobiose. In Aufstrichpräparaten bemerkt man weiterhin einen lichten Hof um die Bacillen, jedoch ist mittels spezifischer Kapselfärbung eine direkte Kapsel nicht nachweisbar.

Kulturen entnommene Bacillen zeigen Einbewegung; mit Hilfe der Geißelfärbung erkennt man 5—6 Geißeln in peritricher Anordnung. Auf der Agaroberfläche bildet der Bacillus nach 24 Stunden bei Bruttemperatur grauweiße, glänzende Kolonieen; bei Zimmertemperatur ist das Wachstum ebenfalls reichlich. Die Kolonieen resp. der Belag ist im durchfallenden Lichte etwas bläulich, späterhin weiß und der Geruch erinnert an den der Suipestifer- und der Coli-Kulturen. Intensiver ist der Geruch der Bouillonkulturen. Bouillon wird unter Säurebildung in toto getrübt, bei absoluter Ruhe bildet sich an der Oberfläche ein wenig resistentes Häutchen, die Aufhellung tritt in 12—14 Tagen ein, indem sich ein bedeutender Niederschlag ansammelt. In Peptonwasser entsteht allgemeine Trübung; in sterilisierter Kochsalzlösung erkennt man das Wachstum dadurch, daß sich die Flüssigkeit während des Schüttelns trübt. Traubenzuckerbouillon wird unter kräftiger Säurebildung und unter lebhafter Gasentwickelung vergoren. Gut wird die Vergärung des Zuckers in Stichkulturen in Traubenzucker-Glycerinagar beobachtet. Nach 24-stündigem Aufenthalte im Brutofen wird der Nährboden zerspaltet, teilweise emporgetrieben. Auf schräger Gelatine gedeiht das Bakterium ohne Verflüssigung, auf der Gelatineplatte sind die tiefliegenden Kolonieen rund, gelblich-braun, während jene, welche die Oberfläche erreicht haben, sich flach ausbreiten und einen gezackten Rand erhalten, ohne den Nährboden zu verflüssigen. In einigen Tagen darauf zeigt die Gelatine um die Kolonieen eine schwache Trübung.

Auf Kartoffeln bildet sich ein üppiger, brauner Belag; Gasentwickelung auf Kartoffeln wurde nur in einem einzigen Falle beobachtet (Tavel [10]). Milch kommt nicht zur Gerinnung; Indolreaktion fehlt. Die Anwesenheit von Indol trachtete ich nach der Methode von Kitasato in Peptonwasserlösungkulturen (Kochsalzzusatz nebst Pepton sicc. Witte [Gorini, Baginsky, Kruse]) 14 Tage hindurch Tag für Tag nachzuweisen, jedoch jedesmal ohne Erfolg. In 2-proz. Milchzucker-

bouillon — bei 37° C — tritt schon in der 5. Stunde allgemeine Trübung ein.

Agar, mit Safranin gefärbt, wird binnen 48 Stunden entfärbt; nach Zusatz von Lackmus zum Agarnährstoff tritt schon nach 12 Stunden die Entfärbung ein, und werden diese Kulturen im Brutschranke gehalten, so kehrt die originelle Farbe des Agaragars selbst nach Tagen nicht wieder zurück (Rothberger [11], Scheffler [12], Wolff). Die farbenanalytische Methode zur Unterscheidung des Bact. coli und typhi scheint auch uns um so wertvoller zu sein, da auf Gas-, Säure-, Indolbildung u. s. w. mit Sicherheit niemals gerechnet werden kann.

Aus den morphologischen, biologischen und kulturellen Eigenschaften des geschilderten Mikroorganismus folgt, daß wir es mit einem Vertreter der großen Coli-Gruppe zu thun haben. In der langen Reihe von Bact. coli commune zum Bac. typhi abdominalis steht unser Bacillus näher zum ersteren, als zum letzteren.

Refik (13) teilte die aus dem Wasser isolierten Vertreter der Coli-Gruppe in 5 Typen; alle diese Typen besaßen Bewegung und zeigten gutes Fortkommen in Uschinsky'scher Nährlösung.

Um die fragliche Coli-Varietät von den Typhusbacillen zu unterscheiden, wurden Kontrolluntersuchungen mit einem bestimmten Coli-Stamm und mit einem Typhusstamme vorgenommen. Der Coli-Stamm, wie auch unsere Coli-Varietät verursachten in Uschinsky-Lösung intensive, allgemeine Trübung mit Häutchenbildung an der Oberfläche, wogegen der Typhusstamm nur schwache Trübung hervorrief.

Rambousek (14) nimmt als einzigen Unterschied zwischen Bact. coli commune und dem Typhusbacillus die Gasproduktion an. Der Colonbacillus ist weiterhin in seinen Eigenschaften um so weniger konstant, indem selbst bei ein und demselben Stamme die Beweglichkeit verschieden sein kann (Stöcklin, Radziewsky [15]). Nach Kellog sollen Coli-Varietäten bei der Passage durch den Tierkörper die Eigenschaften des Bac. typhi abdominalis annehmen. Eine Coli-Varietät, welche P. F. Holst (16) bei Gastroenteritis gefunden hat, koagulierte die Milch nicht, und obwohl die ersten Generationen Indolreaktion zeigten, wurde dieselbe nach künstlicher Uebertragung des Bacillus auf Nährsubstrate immer schwächer und blieb endlich gänzlich aus. Weissenfeld (17) behauptet, daß auch die Milchgärung und Indolbildung als Unterscheidungsmerkmale bei der Determination keinen Wert besitzen, denn „man bezeichnet mit Bact. coli nicht eine bestimmte Species, sondern eine Gruppe ähnlicher Bakterien".

Die mit unserem Bacillus ausgeführten Impfversuche ergaben nachstehende Resultate:

Aus den Organen spontan gestorbener Meerschweinchen und auch in Agonie durch Chloroform getöteter Tiere wurden Bouillon-, Agaragar-, Kartoffel- und Gelatinekulturen angelegt.

Mit diesen Kulturen in das Unterhautzellgewebe infizierte graue Hausmäuse verendeten in 5—8 Tagen. Der anatomisch-pathologische Befund beschränkte sich auf die Leber und die Milz, welche Organe mit unbewaffnetem Auge gut sichtbare punktförmige und größere nekrotische Stellen zeigten. Diese Herde, sowie auch sämtliche parenchymatöse Organe und das Herzblut enthalten das fragliche Bakterium und die gewonnenen Kulturen waren stets Reinkulturen. Inokulationsversuche an weißen Mäusen hatten dasselbe Ergebnis. Die Verimpfung des Virus mittels Herzblut, Leberteilchen, Milzsubstanz

von Maus auf Maus modifiziert die Virulenz des Mikroorganismus nicht in merklicher Weise, indem auch die späteren Versuchstiere durchschnittlich in 6 Tagen verenden. Hingegen verringerte sich die Virulenz, wenn infizierte Mäuse in höherer (21° C) als gewöhnlicher Zimmertemperatur gehalten wurden. Eine 3 Monate alte Agaragarkultur vermochte die Maus anstatt in 5—8, erst in 13 Tagen zu töten. Auf saurem Agaragar scheint die Lebensfähigkeit des Bacillus schneller zu schwinden; 3 Monate alte Kulturen hatten ihre Lebensfähigkeit gänzlich eingebüßt.

Subkutan geimpfte Meerschweinchen verenden binnen 6 Tagen, nach intraperitonealer Einverleibung des Virus innerhalb 24 Stunden. Nach intraperitonealer Infektion tritt der Tod so rasch ein, daß die mikroskopische Untersuchung des Blutes negative Resultate liefert; man findet den Bacillus in der peritonealen Flüssigkeit massenhaft, hingegen in Leber und Milz nur in geringer Zahl.

Meerschweinchen, vom intakten Conjunctivalsack aus infiziert, erliegen binnen 5 Tagen einer Allgemeininfektion. Der Bacillus war noch am fünften Tage auf der Bindehaut zu finden, wie auch auf der beiderseitigen Nasenschleimhaut; Milz und Leber lieferten Reinkulturen. Es ist schon länger bekannt (Guté, Galtier, G. Mayer [23], Römer [18]), daß vom Bindehautsacke aus eine Allgemeininfektion leicht hervorgerufen werden kann, und unser Versuch scheint jene Versuchsergebnisse zu bestärken, welche die eminente resorptive Thätigkeit der unverletzten Bindehaut erkannt haben gegenüber jenen, welche den baktericiden Wert der Thränen oder wenigstens den Wert ihrer mechanischen Wirkung überschätzen.

Einführung einer Bouillonkultur (0,5 ccm) in die Blutbahn eines Kaninchens verursachte ebenfalls eine Allgemeininfektion und sämtliche Organe des nach 60 Stunden verendeten Tieres enthalten den Infektionserreger. Subkutan infizierte Kaninchen (0,1, 0,3, 0,6 ccm) bleiben am Leben; die Tiere nehmen an Gewicht zu; an der Injektionsstelle tritt Rötung mit Infiltration auf, späterhin ein knolliger Tumor, dann Absceßbildung; aus dem Abscesse entleerte sich rahmiger Eiter, enthaltend eine enorme Zahl der in Rede stehenden Bacillen. Außer den Veränderungen an der Infektionsstelle scheint das Allgemeinbefinden der Kaninchen nicht gestört zu sein. Nach dem Durchbruche des Eiters vollzog sich die Heilung unter Krustenbildung.

Das Einspritzen von 0,5 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur in den Dickdarm ruft den Tod der Kaninchen in 36 Stunden herbei.

1,0 ccm einer Bouillonkultur wurde einer Taube intramuskulär verimpft. Exitus am siebenten Tage nach der Infektion. Die Muskulatur der Infektionspforte ist in ihrem ganzen Durchmesser blaßgelblich gefärbt und trübe; das intramuskuläre Bindegewebe ist orangegelb und durchfeuchtet; die Muskelfasern der ganzen Körpermuskulatur sind bleich; die inneren Organe zeigen keine Erkrankung. Das Herzblut, die Leber und die Milz sind mikroskopisch und auch kulturell steril, an der Impfstelle ist das Bakterium massenhaft anzutreffen.

Subkutane Injektion von 2,5 ccm einer 24 Stunden alten Bouillonkultur bei einem 7-jährigen Hunde und 5,0 ccm einer 2 × 24 Stunden alten Bouillonkultur subkutan verimpft an einem 1-jährigen Hunde, verursachten keinerlei Erkrankung. Das Befinden der Versuchstiere war ungestört. Der Obduktionsbefund der nach einem Monate getöteten

Hunde war gänzlich negativ; die eingeimpften Bacillen konnten nirgends nachgewiesen werden.

Einem Lamme wurden 2,5 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur unter die Schenkelhaut gebracht; außer der reaktiven Entzündung der Impfstelle blieb das Tier gesund, sowie auch jenes, welches mit dem geimpften Versuchstiere gemeinsam gehalten wurde.

Die subkutane Verimpfung von 2,5 ccm einer 1-tägigen Bouillonkultur verursachte bei einer Katze am folgenden Tage Sträubung des Haares, totale Appetitlosigkeit und Atembeschwerden, worauf sich das Tier dann schnell erholte und Monate hindurch gesund verblieb.

Erdzeischen (Zieselmaus, Spermophilus citillus) wurden subkutan und per os infiziert. Nach subkutaner Einverleibung der letalen Dosis der Meerschweinchen (0,5 ccm) gingen die Tiere in 6 Tagen ein, bei den Fütterungsversuchen tritt der Tod am vierten Tage ein. Klinisch sind Erbrechen, Diarrhöe, lähmungsartige Schwäche des Hinterkörpers, Schüttelfrost und Abmagerung beobachtet worden.

Dieselben klinischen Symptome wurden bei grauen Ratten nach Verfütterung von Kulturen beobachtet. Diese Versuchstiere wurden mit mit Bouillonkulturen getränkten Semmeln 1- oder 2mal gefüttert, worauf sie dann in $^1/_2$—$2^1/_2$ Tagen eingingen. Nachdem die Kulturen sich bei den Laboratoriumsversuchen für Ratten stets sehr virulent erwiesen haben, wurden solche auch zur Tilgung von im Freien lebenden Ratten verwendet. Die Versuche lassen ein günstiges Resultat erhoffen, doch sind dieselben noch nicht abgeschlossen.

Um das Verhalten unseres Mikroorganismus bei Passage durch den Kaltblüterorganismus zu verfolgen, benutzte ich Frösche (Rana esculenta). 0,2, 0,5, 1,0 und 2,0 ccm eines Gemisches von 5,0 ccm steriler NaCl-Lösung + 0,5 ccm Bouillonkultur wurden Fröschen in den Sacc. cranio-dorsalis eingespritzt, worauf einige der Tiere bei Zimmertemperatur, einige bei 21° C und der Rest im Wasser von 35° C gehalten wurden. Die Tiere verendeten in einem Zeitraume von 1—6 Wochen. 1 ccm einer aus dem Herzblute eines Frosches gewonnenen Kultur tötete in 36 Stunden, 0,5 ccm in 50 Stunden, 0,2 ccm in 10 Tagen. Die Veränderung des Virus durch mehrfache Passage des Froschkörpers war eine derartige, daß eine Oese der aus dem letzten Froschkörper stammenden Agarkultur auf eine graue Hausmaus keine pathogene Wirkung mehr hatte.

Ein Ferkel im Alter von 3 Monaten wurde mit dem Futter zugesetzter Bouillonkultur infiziert. Nach 24 Stunden stieg die Temperatur von 38,6 auf 39,4° C, der folgende Tag war fieberfrei, Freßlust blieb stets ungestört.

Emmerlinge (Goldammer, Fringilla citrinella) zeigten sich dem Bacillus gegenüber sehr empfindlich. 0,1 ccm einer Bouillonkultur, intramuskulär verimpft, war immer tödlich, sogar die mit einem Nadelritz in die Muskulatur eingeführte Menge der Kultur bewirkte den Tod der Tiere.

Zur Entscheidung der Frage der eventuellen Toxinbildung wurden die Versuchstiere mit Bouillonkulturfiltraten (Chamberland-Filter) folgenderweise behandelt. Nach Darreichen von mit dem Filtrate durchtränkten Semmelteilchen gingen weiße und graue Mäuse in 9—10 Tagen, graue Mäuse nach einer subkutanen Dosis von 0,5 ccm in 14 Tagen ein. Meerschweinchen vertrugen 1,0 ccm subkutan gut; wurden 7,5 ccm in die Bauchhöhle gespritzt, blieben die Tiere ebenfalls am Leben.

Die Abtötung der Kulturen wird durch eine Erhitzung auf 62° C binnen 10 Minuten nicht erreicht, auch eine 1-stündige Erhitzung auf 60° C war ungenügend, indem mit solchen Kulturen behandelte Meerschweinchen (0,5—0,5 ccm) in 22 resp. 34 Tagen eingingen. Der pathologisch-anatomische Befund war prägnant. Im Abscesse an der Impfstelle, in der Leber, Milz und Niere, in der Gallen- und Harnblase wurde der Bacillus mikroskopisch und kulturell nachgewiesen.

Eine 8 Monate hindurch monatlich überimpfte Agaragarkultur hat in ihrer Virulenz wenig gelitten. Der Tod des mit solcher alten Kultur subkutan infizierten Meerschweinchens tritt 4—5 Tage später ein (0,1 ccm).

Die mikroskopische Untersuchung tingierter Leberschnitte zeigt im Lebergewebe auf mehrere Lobuli ausgebreitete, nekrotische Herde, welchen entsprechend die Struktur der Lobuli noch gut wahrnehmbar ist, die Gewebselemente sich jedoch nur blaß oder gar nicht färben. Die Herde umringt in einem breiten Streifen eine Leukocyteninfiltration als Zeichen demarkierender Entzündung. Um die interlobulären Blutgefäße und Gallengänge ist eine kleinzellige Infiltration zu erkennen; die Kapillaren der Lobuli sind erweitert.

In der Brustmuskulatur der Taube war der Infektionsstelle entsprechend das Muskelgewebe in breitem Umfange durch ein dem Narbengewebe ähnliches Gewebe substituiert, welches in knötchenartigen Herden einen Absterbungsprozeß andeutet. Um solche schlecht färbbare Herde, welche außer Detritus meist nur Kernzerfall aufweisen, sind kleine Zellen in dichter Masse vorhanden und an der Peripherie des durch diese Zellen gebildeten Ringes sind — teilweise ebenfalls in bedeutender Zahl — epithelartige Zellkerne in riesenzellenartiger Anordnung zu sehen. In an Kleinzellen reichem Gewebe sind stellenweise ganz homogene Muskelpartieen eingebettet, während weiter nach außen ein Teil der Muskelfasern fein granuliert oder durchsichtig, homogen erscheint.

Die mitgeteilten bakteriologischen Untersuchungen haben somit als Erreger der Meerschweinchenseuche einen Bacillus aus der Coli-Gruppe nachgewiesen, der jedoch mit keiner der bisher nachgewiesenen Varietäten des Bact. coli commune in allen Einzelheiten identisch ist. Der erst jüngst von F. Lochmann gefundene Bacillus caseolyticus scheint morphologisch, kulturell und teilweise auch hinsichtlich der Pathogenität — soweit dies den in der Lochmann'schen Mitteilung geschilderten Tierexperimenten zu entnehmen ist — unserem Mikroorganismus am nächsten zu stehen. Die bei unserer Epizootie im Jahre 1900 isolierte und im Jahre 1901 beschriebene (19) Coli-Varietät wäre daher bei Meerschweinchen abermals angetroffen worden.

Die klinischen Symptome unserer Tiere, sowie der pathologisch-anatomische Befund, gestützt durch die histologischen Ergebnisse, deuten auf eine Coli-Infektion hin. Auch die vor dem Tode konstatierte Hypothermie — als die Körpertemperatur herabsetzende Eigenschaft des Coli-Bacillus — ist in der Litteratur wohlbekannt [Boix (20), Kruse u. A.]. Als „eigentümliche Wirkungen" sind die herdförmigen Veränderungen in der Leber, unter den klinischen Erscheinungen Hemi- und Paraplexie und nach subkutaner Einverleibung des Virus die Absceßbildung bei Kaninchen (21) bekannt.

Kurz möchte ich noch erwähnen, daß bei unserer Epidemie auf Coccidiose, Tuberkulose und Pseudotuberkulose stets mit negativem Ergebnisse geforscht wurde.

Sowohl die im Vorstehenden geschilderte Epizootie als auch deren Infektionserreger wurde aus dem Grunde eingehender studiert, weil der postmortale Nachweis des Bact. coli in den inneren Organen — worauf auch Baumgarten (21) aufmerksam macht — ein zufälliger Befund sein kann und daher stets mit Reserve zu beurteilen ist; andererseits aber das Vorkommen des Coli-Bacillus bei Meerschweinchen, Ratten, Pferden und Tauben fraglich war [Dyar und Keith, Fremlin (13)]. Die Mitteilungen von Sanfelice, Piorkowski, Jess (22) u. A. haben jedoch auch diese Frage beantwortet. Uebrigens werden in neuerer Zeit Vertreter der Coli-Gruppe mit der Aetiologie verschiedener Tierkrankheiten in Zusammenhang gebracht.

---

**Litteratur.**


1) Pfeiffer, Ueber die bacilläre Pseudotuberkulose bei Nagetieren. Leipzig (G. Thieme) 1889.
2) Tartakowsky, Virchow u. Hirsch, Jahresbericht über Leistungen u. Fortschritte in der ges. Medizin. Bd. XXXIII. p. 276.
3) Strada u. Traina, Ueber eine neue Form von infektiöser Lungenkrankheit der Meerschweinchen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900.)
4) Weber, Ueber eine Pneumonie-Epizootie unter Meerschweinchen. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1901. Heft 3.)
5) Stefansky, Ueber eine durch Streptococcus lanceolatus hervorgerufene Epizootie bei Meerschweinchen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX. 1901.)
6) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900. No. 9.
7) Martini, Ein gelegentlicher Erreger der Lungenentzündung bei Meerschweinchen, Bac. pulmonum glutinosus. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVIII. 1900. Heft 2.)
8) Baumgarten, Jahresbericht über die pathogenen Mikroorganismen. Bd. XIII. 1897.
9) Lochmann, F., Ein neuer, der Gruppe des B. coli commune verwandter, für Mäuse und Meerschweinchen pathogener Mikroorganismus (Bacillus caseolyticus). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXI. 1902. No. 9.)
10) Preisz, Bakteriologia. Budapest 1899.
11) Rothberger, Differentialdiagnostische Untersuchungen mit gefärbten Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIV. 1898.)
12) Scheffler, Das Neutralrot als Hilfsmittel zur Diagnose des Bacterium coli. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900.)
13) Flügge, Die Mikroorganismen. Teil II. Leipzig 1896.
14) Rambousek, Vergleich. und kritische Studien betreffend die Diagnostik des Bac. typhi und des Bact. coli. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVIII u. Ref. Hyg. Rundschau. Jahrg. XI. No. 19.)
15) Radziewsky, Beitrag zur Kenntnis des Bact. coli. (Zeitschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXIV. 1900.)
16) Baumgarten-Tangl, Jahresbericht. Jahrg. X. 1894.)
17) Weissenfeld, Zeitschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXV. 1900.
18) Römer, P., Experimentelle Untersuchungen über Infektion vom Conjunctivalsack aus. (Zeitschr. f. Hygiene etc. Bd. XXXII. 1899.
19) Hutyra-Rátz, Közlemények az összehasonlitó élet-és kórtan köréböl. Budapest 1901. V. kötet. [Ungarisch.]
20) Baumgarten-Tangl, Jahresbericht 1895. Jahrg. XI.
21) — —, Jahresbericht 1899. Abt. I.
22) Piorkowski u. Jess, Bact. coli als Ursache eines seucheartigen Pferdesterbens in Westpreußen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIX. 1901. No. 7.)
23) Mayer, G., Wien. med. Wochenschr. 1901. No. 9.)


---

# Ueber Pebrine und verwandte Mikrosporidien.

## Ein Beitrag zur Kenntnis der brasilianischen Sporozeen.

[Aus dem bakteriologischen Institute des Staates San Paulo.]

Von Dr. **Adolph Lutz** und **Alfonso Splendore.**

Erste Mitteilung.

Mit 1 Figur.

In Folgendem beginnen wir die Veröffentlichung der Resultate, welche wir bei einem eingehenden Studium der Pebrine und verwandter Mikrosporidienarten gewonnen haben. Die Schwierigkeit des Gegenstandes, welcher sich selbst in langer Arbeit nicht vollständig bemeistern ließ, hat uns bisher von einer Veröffentlichung abgehalten. Indessen haben wir bereits so viele neue oder von den bisherigen Angaben abweichende Resultate erhalten, daß eine Publikation nicht ganz unberechtigt erscheinen dürfte.

Abgesehen vom praktischen Interesse für die Seidenzucht, sind es besonders folgende Umstände, welche uns die Pebrine interressant machen: Einmal handelt es sich dabei um einen der wenigen parasitischen Prozesse, bei welchen der Nachweis einer erblichen Uebertragung als erbracht gilt, zweitens stehen heute alle Sporozoen und besonders die unvollkommen bekannten im Vordergrunde des Interesses der parasitologischen Forschung und drittens hat man auf der Suche nach bisher unentdeckten Parasiten besonders bei den malignen Tumoren auch die Mikrosporidien als Zellparasiten in die Diskussion gezogen.

Der erste Anstoß zu dieser Arbeit wurde durch eine Beobachtung gegeben, welche einer von uns vor 15 Jahren gelegentlich seiner ersten Sporozoenstudien machte. Es handelte sich um das seither oft bestätigte, in San Paulo fast regelmäßige Vorkommen einer Pebrineart bei einem hier zu Lande sehr häufigen Schmetterlinge (Brassolis Astyra Godt.). Bei zahlreichen damals untersuchten Raupen, Puppen und Schmetterlingen anderer Art gelang es nicht, diese oder eine andere Species wieder zu finden. Dagegen fand sich bei einem kleinen Fische (Girardinus spec.) ein ähnliches Mikrosporidium.

Aus Mangel an Vergleichsmaterial mußte es zweifelhaft bleiben, ob die offenbar Nosema bombycis sehr ähnliche Form mit diesem identisch oder nur verwandt und ob sie für die Seidenraupe infektiös war.

Erst vor $1^1/_2$ Jahren nahmen wir dieses Problem wieder auf. Es gelang uns, nicht nur reichliches Material von Brassolis Astyra aufzufinden, sondern auch während der Uebertragungsversuche auf andere Species eine neue, verschiedene und ganz charakteristische Species zu entdecken. Daraufhin wurden wieder zahlreiche Untersuchungen gemacht, die eine größere Anzahl anscheinend verschiedener Mikrosporidien ergab, welche zum größten Teile bei Lepidopteren vorkommen, während eine Species bei Orthopteren (Periplaneta) und eine andere bei Arachniden (Hydrachne spec.) gefunden wurde. Mit den Lepidopterenspecies wurden dann wieder Uebertragungsversuche gemacht.

Unterdessen waren auch in San Paulo Seidenraupen eingeführt worden, und es gelang Dr. Splendore, eine genügende Anzahl ge-

sunder Eier von Bombyx mori zu erhalten. Die daraus gewonnene Zucht wurde zu Infektionszwecken benutzt. Ein weiteres günstiges Infektionsmaterial fanden wir in Pieris monaste L. (nach Holland), welche, ohne selbst infiziert zu sein, sich leicht infizieren ließ; auch eine Zucht von Attacus eurota diente zu Untersuchungszwecken.

Später erhielten wir durch Dr. Achille Splendore aus Italien pebrinekranke Seidenspinner, welche uns Material zu Vergleichen und auch zu erfolgreichen Uebertragungsversuchen boten.

Da in Beziehung auf Fixierungs- und Färbetechnik sowie über Anwendung von Reagentien nur wenige Angaben vorlagen, beschäftigten wir uns sehr eingehend mit diesen Fragen, wobei Dr. Splendore die Aufstellung vieler zeitraubender Versuche übernahm. Es gelang, wenigstens für gewisse Stadien befriedigende Färbemethoden aufzufinden, wobei sich auch bei verschiedenen Arten einige kleine Unterschiede ergaben; andere Stadien freilich eignen sich wenig oder gar nicht für die Anwendung von Farbstoffen. Um Verwechselungen möglichst auszuschließen, waren wir gezwungen, uns in die mikroskopische Anatomie der Insekten einzuarbeiten; außerdem galt es auch, die Speciesbestimmung der Wirte zu machen, was beides durch den Mangel an diesbezüglicher Litteratur, dem nur langsam abgeholfen werden konnte, erschwert und verzögert wurde. Andererseits stieg das Vertrauen in die gewonnenen Resultate durch die unabhängige Arbeit und die Notwendigkeit, gewisse Versuche des öfteren zu wiederholen.

Im Folgenden werden wir auf nachstehende Punkte eingehen:

1. Multiplicität der Arten und Charakterisierung derselben nach Formgröße und Vorkommen.
2. Verhalten zu Reagentien, Fixier- und Färbungsmethoden.
3. Entwickelungsgeschichte, spontane Infektion und künstliche Uebertragung. Die Frage der Vererbung.
4. Ueber die Klassifikation der Nosema-Arten und die Stellung der Mikrosporidien im Systeme.

## 1. Multiplicität der Nosemaarten. Charakterisierung der beobachteten Formen.

Für die bei der als Pebrine oder Gattine bekannten Seidenraupenkrankheit konstant gefundenen Cornaglia'schen Körperchen scheint der von Nägeli eingeführte Name Nosema besser berechtigt, als der später von Thélohan gewählte Glugea. Obgleich ursprünglich nur für eine Entwickelungsphase gebraucht, die nach unserer Auffassuug der Dauerspore entspricht, behalten wir denselben für den ganzen zugehörigen Organismus als Genusnamen bei. Für die Familie brauchen wir bis auf weiteres den von Balbiani herrührenden Namen Mikrosporidien, da die Vereinigung mit den Myxosporidien durch Thélohan sich auf Beobachtungen stützt, welche wir an unserem Material absolut nicht bestätigen konnten. Als Charakter der Mikrosporidien ist nach unserer Auffassung weniger die geringe Größe, als der Mangel von nachweisbaren Polfäden und Kapseln anzusehen; daher dieselben auch nicht als Chidosporidien mit den Myxosporidien vereinigt werden können. Aehnliche Formen, aber mit deutlichen oder undeutlichen Polkapseln und nachweisbaren Fäden (nach Gurley als Phäno- oder Kryptocystes) entweder den Myxosporidien zuzuzählen oder in eine besondere Familie zu bringen; trotz eifrigen Suchens haben wir solche

Formen bisher nicht auffinden können und kennen sie daher nicht aus eigener Anschauung.

Bis jetzt ist nur eine geringe Anzahl von Mikrosporidien beschrieben worden und nichts ließ ahnen, daß (wie wir jetzt glauben möchten) ihre Artenzahl kaum hinter derjenigen der phänocystischen Mikrosporidien zurückbleibt.

Durch eine konstante und geringe Sporenzahl wurden von Gurley zwei Gruppen von einer dritten unterschieden, bei welcher dieselbe wechselt und unbestimmt, meist aber sehr groß ist (eigentliche Nosema-Arten).

Morphologische Verschiedenheiten wurden nur gelegentlich, so von J. Pfeiffer, hervorgehoben; wie uns scheint, dachten die meisten selbständigen Beobachter etwa so, daß die bei verschiedenen Klassen und Ordnungen vorkommenden Formen als verschiedene Arten aufzufassen wären, besonders wenn sie auch morphologisch abwichen; dagegen erkannten sie bei Lepidopteren nur eine Art an, nämlich die Pebrine oder Nosema bombycis. Balbiani, der angiebt, dieselbe auf Liparis heustria übertragen zu haben, während L. chrysorrhoea nicht infizierbar sei, erwähnt mit keinem Worte, daß bei der letzten häufigen und geselligen Raupe keine ähnliche Nosema-Art spontan vorkommt, obgleich diese Möglichkeit ziemlich nahe liegt. Auch Pfeiffer, der die bei Attacus pernyi beobachtete Pebrine auf Plusia gamma übertrug, spricht sich über die Pebrinefreiheit dieser letzteren Art nicht aus und unterscheidet auch das Nosema von Attacus nicht von Nosema bombycis, obgleich er angibt, daß ersteres in der Raupe nicht die gleiche Verbreitung zeige.

Wir haben dagegen bloß in hiesiger Gegend gegen 10 von Nosema bombycis morphologisch verschiedene, bei Lepidopteren vorkommende Arten gefunden; außerdem beobachteten wir bei den (weit weniger eingehend untersuchten anderen) Insekten, Arachniden und Fischen noch je eine verwandte, indessen verschiedene, neue Art. Es liegt daher nahe, anzunehmen, daß bei Vermehrung der Beobachter und Verschiebung der Wirkungskreise noch zahlreiche neue Formen aufgefunden werden könnten.

Für die Speciesbestimmung verwenden wir vorderhand nur die sogenannten Pebrinekörper, d. h. nach unserer Auffassung die Propagations- oder Dauersporen, da die anderen Formen sich aus verschiedenen Gründen für die Klassifikation nicht eignen.

Bei der Kleinheit und einfachen Struktur der Dauersporen müssen wir, wie bei den Bakterien, verschiedene, nicht eigentlich morphologische Merkmale heranziehen, z. B. das Verhalten zu Reagentien, die Färbbarkeit, das Vorkommen und die Lokalisation bei den einzelnen Wirten und endlich das Resultat der Infektionsversuche.

Obgleich die Form und Größe der einzelnen Sporen bei den meisten Arten etwas variiert, hat uns doch dieselbe bis jetzt ziemlich befriedigende Resultate ergeben, indem sich die Durchschnittswerte und Verhältnisse der einzelnen Dimensionen doch deutlich von einander unterscheiden. Trotzdem betrachten wir diese Klassifikation nur als eine provisorische. Bei der Besonderheit der vorliegenden Verhältnisse scheint es unmöglich, die Speciesnamen bloß den Eigentümlichkeiten der Sporen zu entnehmen, welche hauptsächlich auf numerische Differenzen her-

auslaufen, weßhalb wir einer, heutzutage ziemlich verpönten, Methode folgend, die Speciesbezeichnung dem Namen des zuerst entdeckten Wirtes entnehmen.

Zur Orientierung der Sporen gehen wir von folgenden Gesichtspunkten aus:

Jede der hierhergehörigen Sporen hat zwei mehr oder weniger spitz abgerundete Enden, welche wir als Pole bezeichnen; wo ein deutlicher Unterschied vorhanden, gilt das mehr zugespitzte, vacuolenfreie Ende als vorderer, das andere als hinterer Pol. Durch beide wird der längste Durchmesser oder die bipolare Axe bestimmt. Senkrecht auf der Mitte derselben befinden sich die äquatorialen Axen in der äquatorialen Ebene. Der größte, mit dieser zusammenlaufende oder parallele Durchmesser gilt als Breitendurchmesser. Bei den regelmäßig gebauten Sporen werden durch eine beliebige, beide Pole schneidende Ebene zwei symmetrische Hälften erzeugt; es ist also kein Unterschied zwischen Breiten- und Dickendurchmesser vorhanden. Wäre ein solcher da, so müßte der größte senkrecht zur Längsaxe stehende Durchmesser als Breite gelten, entsprechend der Lage, die ein solcher Körper anzunehmen bestrebt ist. Der darauf senkrecht stehende Durchmesser wurde dann als Dicke gerechnet. Die einen Pol mit dem anderen verbindenden Linien der Außenfläche nennen wir Meridiane; sind sie ihrer ganzen Länge nach gezogen, so haben wir eine regelmäßige oder unregelmäßige Eiform, je nachdem die durch den Aequator getrennten Hälften einander gleich sind oder nicht. Die unregelmäßige Eiform geht in die Birnform über, welche regelmäßig oder unregelmäßig sein kann. Im ersten Falle ist das Mittelstück kegelförmig, die Endstücke (Polarcalotten) gewölbt. Ist das Mittelstück cylindrisch, so haben wir eine kurze oder mehr weniger gestreckte cylindro-ovaläre Form. Die Bezeichnungen beziehen sich immer auf den Durchschnittstypus, ohne kleine Abweichungen zu berücksichtigen, wenn sie nur bei vereinzelten Sporen vorkommen.

Wir sprechen von Polymorphie nur dann, wenn bei derselben Art regelmäßig verschieden gebaute Typen vorkommen, und vernachlässigen kleine Unterschiede in den Dimensionen, wenn die Proportionen dieselben bleiben.

Wir geben nun eine Liste der beobachteten Nosema-Arten und ihrer Wirte mit einigen Angaben über deren Lebensweise. Da sich darunter weit verbreitete Arten finden, so kann ein Teil dieser Beobachtungen auch anderswo leicht wiederholt werden; auch sind wir gerne bereit, Solchen, die sich für den Gegenstand interessieren, geeignetes Material abzutreten.

Bei der Untersuchung der Lepidopteren haben wir uns meist an die Raupen gehalten, nur wenige Arten wurden zuerst beim vollkommenen Insekte aufgefunden.

## Liste der Wirtstiere, in denen Nosema-Arten beobachtet sind.

### I. Lepidoptera.

#### A. Tagfalter (Rhopalocera).

1) Brassolis Astyra Bodt.[1]) Raupe häufig in gemeinsamen Nestern

---

1) Nach Mabilde.

auf Palmen. Eine fast constant gefundene Nosema-Art: N. Astyrae.

2) Dione Juno Cram. Raupe häufig und gesellig auf Passiflora edulis. Eine sehr häufige Art: N. Junonis.

3) Dione vanillae L. Raupe weniger häufig, vereinzelt auf Passiflora edulis, 3 Arten.

I. Nosema vanillae $\alpha$. Nicht sehr häufig.
II. Nosema vanillae $\beta$. Etwas häufiger.
III. Nosema vanillae $\gamma$. Nicht sehr häufig.

4) Danais Erippus L. In den wärmeren Zonen weit verschleppt. Raupe nicht selten, aber stets vereinzelt (wie auch die Eier) auf Asclepias curassavica. Eine Art Nosema Grippi. Ziemlich häufig.

5) Danais Gilippus L. Der vorigen auch in der Lebensweise nachstehende Species. Eine Nosema-Art, wahrscheinlich identisch mit N. Erippi. Weniger häufig.

6) Mechanites Lysimnia Fabr. Raupe vereinzelt auf Passiflora edulis. Eine Art Nosema Lysimniae. Ziemlich häufig.

7) Catopsilia Eubule. Eine Art, Nosema Eubules. Schmetterling häufig, aber nur selten infiziert. Keine Larven untersucht.

B. Nachtfalter (Nocturna).

8) Lophocampa flavostica, Bombycidae Gram. Raupe gesellig und häufig, auf Senecia brasiliensis. Eine Art, Nosema Lophocampae. Ziemlich häufig.

## II. Orthoptera.

9) Periplaneta americana, Blattidae. Den Menschen in allen warmen Zonen begleitendes, gemeines Hausinsekt. Eine Art, Nosema periplanetae. Sehr häufig.

Außerdem wurden einige Pebrinearten nur vereinzelt gefunden und deswegen weniger eingehend studiert. Wir erwähnen die folgenden:

1) Eine Nosema-Art, von den schon erwähnten besonders durch bedeutendere Größe deutlich verschieden; einmal bei einem zu den Pieriden gehörigen Schmetterlinge gefunden.

2) Eine Art, ähnlich Nosema Lophocampae, einmal bei einer unbekannten Bombycide. (Nur ein Schmetterling untersucht.)

3) Eine Art, verschieden von N. periplanetae, bei Gryllotalpa spec.

4) Ein Nosema, scheinbar eigene Art, bei einer Art von Hydrachniden.

Ferner bleibt uns noch anzuführen aus der Klasse der

## Fische

10) Girardinus spec., Cyprinodontes, enthielt eine Art, Nosema Girardini. Häufig, aber nicht immer reichlich in der Haut, Muskulatur, Serosa und Mucosa intestini.

Nach der Form gruppieren sich die Arten folgendermaßen:

## A. Monomorphe Sporen.

### I. Ovoide Form.

Eine regelmäßige Form mit symmetrischen Polcalotten wurde nicht gefunden, indem das Hinterende immer etwas stumpfer war. Im Uebrigen zeigten die folgenden Arten eine bilateral symetrische Eiform, deren größte Breite mit der äquatorialen Ebene zusammenfällt:

1) Nosema vanillae $\alpha$. Länge 2,5—9,75 $\mu$, Breite 85—1,30 $\mu$ (Fig. 1).
2) N. Astyrae. Länge 4—4,5 $\mu$, Breite 2,5—3 $\mu$ (Fig. 2).

### II. Ovocylindrische Form.

3) N. periplanetae. Länge 5—6 $\mu$, Breite 2,5—3,5 $\mu$ (Fig. 3).

Hierher gehört wahrscheinlich auch die Form aus einer Pieridenart.

### III. Birnform.

Symmetrie bilateral, aber nicht antero-posterior. Größter Breitendurchmesser dem hinteren Pole genähert.

4) N. Girardini. Länge 2—2,5 $\mu$, gr. Breite 1—1,5 $\mu$ (Fig. 4).

Hierher gehört wahrscheinlich auch die Form aus einer Hydrachnidenart.

## B. Bi- und polymorphe Sporen.

### I. Ovale und mehr oder weniger gestreckte Cylindereiform.

5) N. Lophocampae. Länge 3,5—4 $\mu$, Breite 1—2 $\mu$. Cylinderform vorwiegend (Fig. 5).
6) N. vanillae $\gamma$. Länge 3,5—6 $\mu$, Breite 2—3 $\mu$. Vorwiegend gestreckte Cylindereiform (Fig. 6).
7) N. Erippi. Länge 3—3,5 $\mu$, Breite 1,5—2,5 $\mu$. Unregelmäßige Ei- und Cylindereiform (Fig. 7).
8) N. vanillae $\beta$. Länge 2,5—3,5 $\mu$, Breite 1—2 $\mu$. Mehr oder weniger lange Ei- und Cylindereiform (Fig. 8).
9) N. Junonis. Länge 3,5—8 $\mu$, Breite 1—2 $\mu$. Ei- und mehr oder weniger gestreckte Cylindereiform (Fig. 9).

### II. Ei- und Birnform.

10) N. Lysimniae. Länge 4—6 $\mu$, Breite 2—2,5 $\mu$. Ei- und Birnform (Fig. 10).

### III. Mehrere zum Teil unregelmäßige Formen.

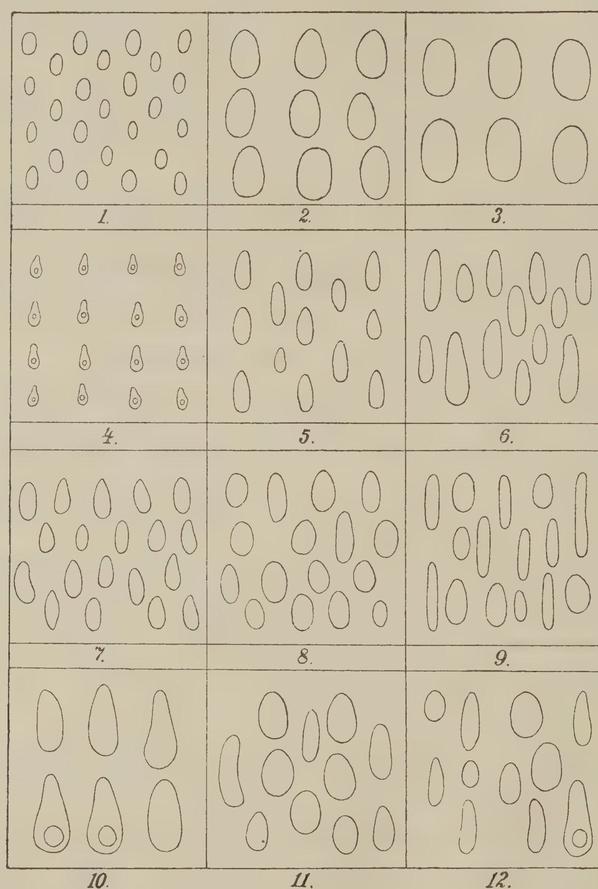
11) N. bombycis. Länge 3,5—5 $\mu$, Breite 1,5—2,5 $\mu$. Verschiedene, zum Teil unregelmäßige Ei- und Cylindereiform. Auch bei einem N. bombycis aus anderer Quelle beobachtet (Fig. 11).
12) N. Eubules. Länge 1—2,5 $\mu$, Breite 2—5 $\mu$. Verschiedene Ei-, Cylinderei- und Birnformen (Fig. 12).

Im Uebrigen verweisen wir auf die begleitenden Figuren, welche die Proportionen in 2000-facher Vergrößerung genau wiedergeben.

Bei der Bestimmung der hiesigen Schmetterlinge hielten wir uns an ein in portugiesischer Sprache geschriebenes Buch von A. Mabilde über die Schmetterlinge von Rio Grande. Außerdem bestimmten wir einige Arten nach W. J. Holland, The Butterfly Book. New-York, 1898. Leider stimmt die Nomenclatur in beiden häufig nicht

überein. Eine Entscheidung der streitigen Punkte würde diese Publikation allzusehr verzögern, weshalb wir dieselbe auf eine gelegenere Zeit verschieben.

Als Anhang geben wir noch einige Notizen über die Lokalisation der besprochenen Nosema-Arten und die Folgen ihres Parasitismus für das Wirtstier.




Die Pebrinekörperchen werden nicht nur am Orte ihrer Formation gefunden, sondern auch in anderen Körperregionen, wohin sie durch den Blutstrom oder durch Wanderzellen verschleppt werden. Auf ihre Lokalisation kann natürlich nur im ersten Falle geschlossen werden; man erkennt ihn daran, daß die Sporen noch in den ursprünglichen Verbänden beisammenliegen. Die vollkommene Metamorphose der Lepidopteren führt zu einer weitgehenden Verschleppung, so daß man die Lokalisation nur an den Raupen studieren kann, während die unvollkommene Verwandlung bei Periplaneta keine solchen Folgen hat.

Bei den Lepidopteren ist der Sitz der Dauersporenformation be-

sonders im Darm und den Malpighi'schen Gefäßen, ferner in den Spinn- und Geschlechtsdrüsen. Im Darme erscheint zuerst die Epithelschicht, doch erstreckt sich die Infektion bald auch auf seine Muskelfasern sowie auf die den Darm versorgenden Tracheenäste. Erst wenn der Prozeß sehr allgemein ist, findet man ihn auch im Fettkörper und den anderen Muskeln. Einzelne verschleppte Sporen beobachtet man in zunehmender Menge im ganzen Körper, ja man kann häufig selbst am lebenden Insekte die Infektion durch mikroskopische Untersuchung der Flügel erkennen.

Bei Periplaneta sind es besonders die Malpighi'schen Gefäße, in zweiter Linie der benachbarte Darm, welche befallen werden. Weiter scheint sich die Infektion nicht zu erstrecken. Bei Gryllotalpa beobachteten wir die Lokalisation im Mitteldarm. Die Verbreitung bei Girardinus ist bereits oben besprochen.

Einen tödtlichen Verlauf der natürlichen Infektion haben wir nur bei der Pebrine des Seidenspinners beobachtet. Bei diesem und Brassolis Astyra deutet eine ausgesprochene Atrophie der Raupe eine sehr intensive Infektion an, während eine solche bei anderen Arten keine deutlichen Symptome machte. Es will uns scheinen, daß ein lange dauerndes Larvenstadium des Wirtes einerseits, eine rasche Vermehrungsfähigkeit der betreffenden Mikrosporidienart andererseits, schädliche Folgen dieses sonst gutartigen Infektionsprozesses begünstigten.

Bei Dioné Juno haben wir oft trotz weitgehender Infektion einen vollkommen normalen Verlauf der Metamorphose gesehen, während stark infizierte Puppen von Brassolis Astyra leicht absterben. Von stark befallenen Seidenraupen erhält man überhaupt keine Coccons. Außerdem ist es durchaus wahrscheinlich, daß die Pebrineinfektion die Resistenz gegen andere Schädlichkeiten herabsetzen kann.

---



# Ueber Lebensfähigkeit von Bakterien in Oel.

[Aus der bakteriologischen Station des I. Armeekorps zu Königsberg i. Pr.]

Von Dr. med. **O. Kurpjuweit.**

Die Erfahrung lehrt, daß sehr oft beim Katheterisieren einerseits trotz größter Asepsis Blasenkatarrhe entstehen, andererseits trotz mangelnder Asepsis — man denke dabei nur an die alten Prostatiker, die viele Jahre lang sich mit unsauberen Kathetern, eingeölt mit zweifelhaftem Oel, selbst katheterisieren — solche ausbleiben. Auf Veranlassung des Herrn Oberstabsarzt Prof. Dr. Jaeger, dem ich hiermit für die Anregung und Unterstützung meinen verbindlichsten Dank sage, beschäftigte ich mich nun mit der Frage, ob überhaupt Bakterien, die immer die Ursache der Blasenkatarrhe sind, in Oel gedeihen oder sich lebensfähig erhalten können, zumal da in der Litteratur, abgesehen von den Arbeiten über den Einfluß ätherischer Oele auf Bakterien, nichts darüber zu finden war.

Zunächst untersuchte ich verschiedene Proben von Olivenöl, das auf den Krankenstationen zum Einölen der Katheter benutzt war.

$^1/_2$ ccm Oel wurde mit steriler Pipette in ein steriles Centrifugierglas gethan, das ca. 5 ccm steriles Wasser oder Bouillon enthielt. Der Inhalt des Gläschens wurde dann kräftig durchgeschüttelt zur Verteilung des Oels. Diese Emulgierung erschien zweckmäßig, da sonst die Bakterien, von einer Oelschicht umgeben, in der Kultur nicht wuchsen oder bei Deckglasausstrichen das Präparat nicht trocknete. Durch Centrifugieren trennte sich das Oel vom Wasser. In der Spitze des Centrifugiergläschens wurde die milchige Flüssigkeit ganz klar. Hiervon wurde $^1/_2$ ccm auf Agar und Bouillon übertragen und auch ein Deckglaspräparat gemacht. In der Regel konnte dann schon im Präparat das Vorhandensein von Bakterien nachgewiesen werden.

Es standen mir 4 Oelproben zur Verfügung.

1. Probe. Olivenöl aus der Apotheke, nicht sterilisiert, es sieht etwas trübe aus. Auf Bouillon bildete sich nach mehreren Tagen ein zartes Häutchen, welches aus feinen Diplokokken besteht. Diese haben keine Aehnlichkeit mit pathogenen Bakterien und waren auch für Mäuse bei intraperitonealer Impfung nicht pathogen.

2. Probe. Das Oel war ca. 8 Tage im Gebrauch und nicht sterilisiert, dagegen waren die Katheter ausgekocht. Es sah trübe aus und hatte einen schmierigen Bodensatz. Auf Agar zeigte sich nach 24 Stunden ein graues Häutchen. Dieses wird gebildet von schlanken Stäbchen, die lange Fäden bilden. Es handelte sich offenbar um einen Luftkeim.

3. Probe. Das Oel war mehrere Wochen im Gebrauch und wurde jedesmal ebenso wie die Instrumente vorher sterilisiert. Es war trübe und hatte keinen Bodensatz. Bouillon und Agar blieben nach der Beimpfung steril.

4. Probe. Das Oel war ca. 5 Wochen im Gebrauch, nicht sterilisiert, die Katheter waren ausgekocht. Er war klar und hatte keinen Bodensatz.

Auf Agar wuchsen zahlreiche Kolonieen, die durch Weiterimpfen isoliert wurden. Es zeigten sich ganz kleine Kolonieen, die aus kurzen Stäbchen bestanden. Ferner wuchsen dickere, undurchsichtige Kolonieen, die von feinen und plumpen Kokken gebildet wurden. Aehnlichkeit mit pathogenen Bakterien bestand nicht.

Das Resultat ist also folgendes: Bekannte pathogene Bakterien sind in Oel nicht gefunden worden. Steril ist nur Probe 3 gewesen, d. h. das Oel, welches vor jedesmaligem Gebrauche sterilisiert war. Der Bakteriengehalt entspricht nicht der Trübung des Oels, sondern beruht wohl auf Verunreinigungen. Die gefundenen Bakterien wurden auf frischen nicht sterilisierten und sterilisierten Harn übertragen, um zu prüfen, ob er durch sie ammoniakalisch wird. Dabei kam man zu keinem Resultat, da auch die unbeimpfte Harnkontrollprobe nach 24 Stunden alkalische Reaktion zeigte und etwas ammoniakalisch roch.

Nun ging ich daran, die Lebensfähigkeit verschiedener Bakterien in Oel zu prüfen. Es wurde ein Oese von einer Reinkultur in ca. 5 ccm steriles Olivenöl fein verteilt und Proben davon in obenerwähnter Weise (Emulgieren in sterilem Wasser, Centrifugieren, Verimpfung des Centrifugats auf Agar und Bouillon) nach 1—14 Tagen untersucht.

Staphylokokken behielten ihre Lebensfähigkeit in Oel bis zu 12 Tagen, Staphylococcus aureus war in seiner Farbstoffbildung nicht beeinträchtigt. Eine Vermehrung der Bakterien schien nicht eingetreten zu sein, da im Centrifugat nur spärlich Kokken nachzuweisen

waren. Nach 12 Tagen waren noch Kokken im Centrifugat, jedoch hatte ihre Färbbarkeit abgenommen, auf der Kultur wuchsen sie nicht mehr.

Bacterium coli. Das Oel zeigte nach mehreren Tagen einen schmierigen Bodensatz, dessen Eigenschaften sich nicht ermitteln ließen. Die Bakterien bildeten bis zum 10. Tage Gas, waren beweglich, also gar nicht in ihrer Lebensfähigkeit beeinträchtigt. Nach 14 Tagen waren sie im Centrifugat nicht mehr nachweisbar, die Kulturen blieben steril.

Diphtheriebacillen. Das Oel blieb klar. Im Centrifugat konnten Bacillen noch bis zum 9. Tage nachgewiesen werden, eine Veränderung ihrer Färbbarkeit war nicht eingetreten. Jedoch wuchsen sie auf Löffler-Serum nur noch nach 2 Tagen, nach 4, 5, 6, 7 Tagen waren die Löffler-Serumröhrchen steril geblieben.

Pyocyaneus zeigte sich bis zum 10. Tage in seiner Vitalität namentlich in der Farbstoffbildung nicht verändert, nach 14 Tagen war er im Centrifugat noch nachweisbar, jedoch blieb die beimpfte Kultur steril. Die Färbbarkeit erschien nach 14 Tagen unverändert.

Micrococcus ureae. Bis zum 7. Tage waren die Kokken gewachsen. Nach 11 Tagen waren sie im Centrifugat nicht mehr nachweisbar, die beimpften Nährböden blieben steril.

Typhusbacillen. In der 1. Versuchsreihe blieben die beimpften Röhrchen schon nach 4 Tagen steril, in der 2. Versuchsreihe wuchsen sie noch nach 10 Tagen, ihre Färbbarkeit und Beweglichkeit war unverändert. Nach 14 Tagen waren im Centrifugat Bacillen nicht mehr nachweisbar, die beimpften Agar- und Bouillonröhrchen blieben steril.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die angeführten Bakterien sich einige Zeit lang bis zu 10 Tagen in Oel lebensfähig erhalten können. Oft waren sie noch später im Centrifugat nachzuweisen, wo sie allerdings, wie Staphylococcus aureus, ihre Färbbarkeit verändert hatten, ihre Wachstumsfähigkeit war jedoch verloren gegangen. In ihren sonstigen Lebenserscheinungen waren die Bakterien, solange sie in der Kultur wuchsen, nicht verändert. Staphylococcus aureus, dessen Farbstoffbildung durch anaërobe Züchtung verloren gehen soll, behielt sie trotz des Aufenthalts in Oel, also in anaërober Aufbewahrung. Pyocyaneus, der fakultativ anaërob ist und bei dem Farbstoffbildung in anaërober Kultur fehlt, behielt Wachstumsfähigkeit und Farbstoffbildung trotz des langen anaëroben Aufenthalts bis zum 10. Tage. Diphtheriebacillen blieben nur 2 Tage lebensfähig, das entspricht auch ihren sonstigen Anforderungen an das Vorhandensein von Sauerstoff, da sie obligat aërob sind. Typhusbacillen und Bacterium coli waren am längsten wachstumsfähig, da sie bei Sauerstoffanwesenheit und -abwesenheit in gleicher Weise gedeihen.

Ebenso wie das obenerwähnte Katheteröl Mikroorganismen enthielt, die mit bekannten pathogenen nicht identifiziert werden konnten, kann gelegentlich auch eine Infektion des Oels mit pathogenen Bakterien stattfinden. Man erinnere sich nur daran, wie man es gelegentlich selbst gemacht hat beim Katheterisieren. Gelingt es nämlich nicht gleich beim ersten Mal, mit dem sterilen eingeölten Katheter in die Blase zu kommen, dann steckt man ruhig den jetzt nicht mehr einwandfreien Katheter mit dem Schnabel von neuem in das Oel. So können Bakterien, die wohl nicht immer pathogener Art sind, zum mindesten jedoch oft für die

Aetiologie einer Cystitis in Frage kommen können, ins Oel gelangen, bleiben hier relativ lange lebensfähig und können, wenn das Oel nicht vor erneutem Gebrauch sterilisiert wird, Anlaß zur Infektion geben. Die Harnröhre können wir, außer durch umständliche antiseptische Ausspülungen, nicht keimfrei machen, die andere Fehlerquelle dagegen, die Infektion des Oels, können wir einfach dadurch ausschalten, daß wir nie den Katheter in die Oelflasche stecken, sondern das Oel auf den Katheter aufträufeln und dieses dann nur von Zeit zu Zeit im Wasserbade sterilisieren.

Abgesehen von dieser praktischen Frage, schien es mir auch nicht uninteressant, das biologische Verhalten der Bakterien in Oel festgestellt zu haben.

---

## Corrigendum.

In Jaeger, Zur Frage der morphologischen und biologischen Charakterisierung des Meningococcus intracellularis, Bd. XXXIII, Originale, ist auf p. 27, Zeile 10 von unten zu lesen „unverständlich" statt „selbstverständlich".

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

## Inhalt.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXIII. No. 3.



# Untersuchungen über Sarcina, Streptococcus und Spirillum.

[Arbeit aus dem Botanischen Institut zu Marburg.]

Von **David Ellis**, B. Sc. (London) aus Aberystwyth, Wales.

Mit 2 Tafeln.

(Schluß.)

Fig. 35a stellt ein mit Methylenblau gefärbtes Stadium dar, in welchem die Brücke ziemlich dünn erscheint. Als dieselbe Zelle entfärbt und mit Karbolfuchsin behandelt wurde, sah man, daß die Zellmembran jetzt an der Brücke unterbrochen war (Fig. 35 b); wahrscheinlich war sie verschleimt. Die Brücke selbst erschien etwas angeschwollen. Die schwache Färbbarkeit der Brücke spricht dafür, daß sie jetzt aus Cytoplasma besteht. In Fig. 31 und 32 sind Stadien dargestellt (mit Karbolfuchsin gefärbt), in denen die Plasmaverbindungen sehr dünn waren, und wo die Zellmembran bis auf die nicht geschlossene Perforation der Plasmaverbindung zu sehen war. Daß die Zellen immer noch in Verbindung sein können, wenn sie auch ziemlich weit voneinander entfernt liegen, lehrt uns Fig. 32.

Fig. 30 stellt einen Zustand dar, den ich nur einmal beobachtete, und der vielleicht ein anormaler ist. Es ist nur das Ende eines sehr langen Fadens dargestellt. Infolge der schnellen Zellteilung geschah es sehr oft, daß die Enden der neuen Zellen ganz frei von Volutans-Kugeln und Fett waren. Im getrockneten Präparate sah man sehr oft 2 Zellen, die scheinbar nur durch eine dünne Scheidewand getrennt waren, und im Geißelpräparate kam diese Erscheinung sehr häufig vor (Fig. 22, 25). Letztere kam, wie ich mich durch direkte Beobachtung an einem Individuum überzeugen konnte, so zustande, daß im Trockenpräparate anfangs (wie in Fig. 27*e*) getrennte Zellen, durch die Färbung mit Karbolfuchsin angeschwollen, mit ihren Enden sich berührten und dort abflachten. Auch bei Färbung des unangetrockneten Materials mit Karbolfuchsin verändert die Quellung die Form der Zellen sehr.

Es scheint fast so, als fände bei den Spirillen keine Entstehung einer gerade durchgehenden Querwand von vornherein statt. Der Teilung scheint vielmehr eine Einschnürung unter zeitweiliger Beibehaltung der alten Membran vorauszugehen, bis bei weiterer Durchschnürung eine Verquellung der Membran eintritt.

### Wichtige Merkmale der Species Spirillum giganteum (Migula). Syn. Spirillum volutans (Kutscher).

Entwickelt sich auf Spirillenagarplatten in Form kleiner, grauer, scharfrandiger Kolonieen. Nach einigen Tagen ist die ganze Oberfläche des Agars mit einem grauen Belage besetzt. Auf Fleischwasseragarplatten entwickeln sich wetzsteinförmige, gekörnte Kolonieen.

Auf der Oberfläche der Fleischwassergelatine - Stichkultur bildet sich nach 5 Tagen ein weißlicher, ca. 2 mm dicker Belag, der bis zum Glasrande reicht. Im Stiche bleibt die Kultur ganz steril.

Sie wächst in der Nährlösung I, in neutralisiertem Pferdefleischwasser und in Nährbouillon. Letztere ist die beste Nährflüssigkeit, und nur in ihr besitzen die sämtlichen Zellen normale Dicke. In Nährlösung I sind die Zellen bedeutend dünner (Fig. 1), und in Pferdefleischwasser schwankt die Dicke von 0,75 $\mu$ bis 1,5 $\mu$. Nach 4—5 Tagen befindet sich am Boden der Nährflüssigkeit eine grau-weiße Schicht. In den Nährlösungen II, III, IV, V, V$\alpha$, V$\beta$, V$\gamma$, V$\delta$, VI, VII, VIII, IX, X, XI wächst die Species nicht. Auf allen festen Nährsubstraten und in Nährbouillon gezüchtet, beträgt die Dicke der Stäbchen ungefähr 1,5 $\mu$.

Die Individuen bilden am häufigsten entweder einen Kreisbogen oder 2 zu einem **S** vereinigte Bogen; wenn fortwährend abgeimpft wird, herrschen die aus 2 Windungen bestehenden Individuen vor. Die Länge der Individuen ist sehr verschieden und liegt meist zwischen 2,5—9 $\mu$. Auf Spirillenagar bleibt mit der Zeit nur eine kleine Anzahl von relativ kurzen Zellen am Leben.

Die Zellen besitzen eine dicke Membran, die leicht mit verschiedenen Reagentien, vorzüglich Karbolfuchsin, gefärbt werden kann, und enthalten Fetttropfen sowie Volutans-Kugeln.

Die Anzahl von Fetttropfen und Volutans-Kugeln erreicht ihr Maximum gewöhnlich in der 3—4 Tage alten Kultur, dann nehmen beide ab.

Es ließen sich bis zu 30, zu einem endständigen Büschel vereinigte, lange, gebogene Geißeln nachweisen.

Die Bewegung erreicht nach 2 Tagen ihre maximale Geschwindigkeit und ist bedeutend schneller als diejenige der anderen Bakteriengattungen.

---

## Angaben über die bei meiner Arbeit benutzten Methoden und Nährsubstate.

Zur Gewinnung der Reinkulturen wurde das sporenhaltige Material 2 Minuten bei 100° C erhitzt und nach der gewöhnlichen Verdünnungsmethode mit Dextrosegelatine verarbeitet. Um sicher zu sein, daß die zu untersuchenden Agarreinkulturen wirklich rein waren, brachte ich die aus der Reinkultur erhaltenen Sporen nochmals auf die Platte.

Die Gelatine war zusammengesetzt aus: Gelatine 10,0, Dextrose 1,0, Chlornatrium 0,2, Liebig's Fleischextrakt 0,8, Pepton (Witte) 1,2, Wasser 100.

Die übrigen festen Nährsubstrate, welche für die Charakterisierung der Bakterienspecies regelmäßig benutzt wurden, waren die folgenden:

I. Dextroseagar. Agar 1,6 g, Dextrose 1,0 g, Chlornatrium 0,2 g, Liebig's Fleischextrakt 0,8 g, Pepton (Witte) 1,2 g, Wasser 100 ccm. — II. Agar-ohne-Dextrose. Dieses Nährsubstrat hatte dieselbe Zusammensetzung wie Dextroseagar, aber ohne Dextrose. — III. Spirillenagar. Nach Zettnow (34, p. 394) in der von Herrn Prof. Meyer angegebenen Modifikation. Zur Herstellung von 1 l Spirillenagar wiegt man 11 g Agar ab und bringt ihn zum Waschen, sowie zum Aufquellen in etwa 0,5 l Wasser. Hierauf wiegt man in einem gewogenen Emailletopf 1000 g Fleischwasser ab, setzt 1 g Pepton dazu, erhitzt dieses fast bis zum Kochen und neutralisiert mit konzentrierter Sodalösung bis zur schwachen Bläuung des Lackmuspapiers. In die Flüssigkeit wirft man den gequollenen Agar, löst ihn im Dampftopfe auf und wägt. Man bringt das Gewicht der Masse durch Wasserzusatz oder Abdampfen im Wasserbade auf 1 kg. Hierauf setzt man 1 g Ammonsulfat und 1 g Kaliumnitrat hinzu und kühlt dann die Flüssigkeit auf 55—50° ab. Man giebt jetzt das Weiße von 2 Eiern hinzu, schüttelt tüchtig um, setzt das Gefäß 50—60 Minuten in den Dampftopf und filtriert. — IV. Mistdekoktagar. Ein Pferdemistdekokt an Stelle des Wassers und des Fleischextrakts in dem oben erwähnten Dextroseagar angewendet. Im übrigen war die Herstellung ganz dieselbe.

Die Zusammensetzung der Nährlösungen 0, I, II, III, IV, V, V$\alpha$, V$\beta$, V$\gamma$, V$\delta$, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII sind in der Gottheilschen Arbeit (9, p. 3) angegeben.

Außerdem benutzte ich die folgenden Flüssigkeiten: a) Harnstofflösung: 100 ccm mineralische Lösung, 0,2 g Natrium-tartrat, 0,8 g Harnstoff. b) Pferdemistdekokt. c) Urin. d) Nährbouillon: 100 ccm Pferdefleischwasser, 1 g Pepton (Witte), 1 g Kochsalz, 1 g Dextrose. e) Nährlösung IIIa: 100 g Fleischwasser, 1 Proz. Pepton, $^1/_2$ Proz. Dextrose, 1 Proz. Kochsalz. f) Nährlösung XIII: Dieselbe Zusammensetzung wie Dextroseagar, nur daß der Agar fehlt.

Diastasebildung.

Die Untersuchung auf Diastase wurde nach der Methode ausgeführt, welche in der Gottheil'schen Arbeit (9, p. 463) nach Angaben von Herrn Prof. Meyer angewendet worden ist. Die Kernfärbung mit Formolfuchsin wurde nach der Meyer'schen Methode (1899. p. 451) ausgeführt.

I. Methylenblaulösungen. a) Methylenblau (gesättigt). In 95-proz. Alkohol gesättigt. b) Methylenblau (1 + 10). 1 ccm Methylenblau (gesätt.) und 10 ccm Wasser (A. Meyer. 1897. p. 392). c) Methylenblau (verdünnt). 1 ccm Methylenblau (gesätt.) und 40 ccm Wasser (A. Meyer. 1899. p. 433). — II. Jodjodkalium. a) Jodjodkalium (konzentriert). 3 g Jod, 3 g Jodkalium, 30 ccm Wasser. b) Jodjodkalium (schwach). 2 g Jod, 1 g Jodkalium, 300 ccm Wasser (A. Meyer. 1899. p. 442). — III. Fuchsinlösungen. a) Fuchsinlösung (gesättigt). In 95-proz. Alkohol gesättigt. b) Fuchsinlösung (1 + 10). 4 ccm Fuchsinlösung (gesättigt) und 40 ccm Wasser. c) Fuchsinlösung (verdünnt). 2 ccm Fuchsinlösung (gesättigt) und 10 ccm Wasser (A. Meyer. 1899. p. 451). — IV. Formol: Formaldehyd puriss. 35 Proz. — V. Gelblösung: Dimethylamidoazobenzol, welches in einer Lösung von 0,4 g auf 100 g 95-proz. Alkohol benutzt wird. — VI. Sudanlösung: Sudan III (von Grübler & Co., Leipzig) 0,1 ccm in 20 ccm 95-proz. Alkohol (A. Meyer. 1899. p. 434). — VII. Gram'sches Verfahren. Das Material wurde auf ein Deckgläschen gestrichen und nach dem Eintrocknen mit Anilinwasser-Gentianviolettlösung unter Erwärmung 2 Minuten lang gefärbt. Dann wurde das Deckgläschen 2 Minuten lang in Jodjodkalium (Solve Jodi 1,0, Kaljodat 2,0, in Aqu. destill. 5,0: nach Lösung adde Aqu. destill. 295,0) gebracht. Die Präparate wurden in absolutem Alkohol entfärbt und in Wasser untersucht. — VIII. Chloralhydratlösung: 5 g Chloralhydrat in 2 ccm Wasser gelöst. — IX. Karbolfuchsin (Ziehl'sche oder Melsen'sche Lösung): 100 ccm 5-proz. Karbolsäurelösung und 10 ccm Fuchsinlösung (gesättigt). — X. Bismarckbraun: 1 g Bismarckbraun + 10 Wasser.

---

## Litteratur.


1) de Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bakterien. 1884.
2) — —, Vorlesungen über Bakterien. 1887. No. 3.
3) Beijerinck, M. W., Anhäufungsversuche mit Ureumbakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. 1901. No. 2.)
4) Bütschli, O., Bemerkungen über Cyanophyceen und Bakteriaceen. (Arch. f. Protistenk. Bd. I. 1902. Heft 1.)
5) Cohn, Untersuchungen über Bakterien. (Beiträge z. Biol. d. Pflanzen. Bd. I. 1875. Heft 2.)
6) Fischer, A., Untersuchungen über Bakterien. (Pringsheim's Jahrbücher. Bd. XXVII. 1895. Heft 1.)
7) Fischer, A., Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897.
8) Goodsir, History of a case in which a fluid periodically ejected from the stomach, contained vegetable organisms of an undescribed form. (Edinb. med. and surg. Journ. 1842. April.)
9) Gottheil, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. 1901.)
10) Grimme, Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung in ihrer Wirkung auf die Membran, den Protoplasten und die Einschlüsse der Bakterienzelle. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXII. 1902.)
11) Hauser, Ueber Lungensarcine. (Deutsches Archiv f. klin. Med. Bd. XLII. 1888.)
12) Hueppe, Die Formen der Bakterien und ihre Beziehungen zu den Gattungen und Arten. Wiesbaden 1886.
13) Kutscher, Die Vibrionen und Spirillenflora der Düngerjauche. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895.)
14) Loeffler, Eine neue Methode zum Färben der Mikroorganismen, im besonderen ihre Wimperhaare und Geißeln. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VI. 1887.)

15) Maurea, Ueber eine bewegliche Sarcine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1892.)
16) Meyer, Arthur, Studien über die Morphologie der Bakterienzelle, ausgeführt an Astasia asterospora (A. M.) und Bac. tumescens Zopf. (Flora. 1897.)
17) — —, Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kern- und Sporenbildung der Bakterien. (Ibid. 1899.)
18) — —, Notiz über das Verhalten der Sporen und Fetttropfen der Bakterien gegen Eau de Javelle und gegen Chloralhydratlösung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIX. 1901.)
19) — —, Ueber die Verzweigung der Bakterien. (Ibid. Bd. XXX. 1901.)
20) — —, Kurze Mitteilung über die Begeißelung der Bakterien. (Ibid. Bd. XXXI. 1902.)
21) Migula, Ueber ein neues System der Bakterien. (Arb. a. d. bakt. Instit. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. 1894. Heft 1.)
22) — —, System der Bakterien. Bd. I.
23) — —, Ibid. Bd. II.
24) Miquel, Manual pratique d'analyse bact. des eaux. Paris 1891.
25) Sames, Eine bewegliche Sarcine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1892.)
26) Schröter, Die Pilze. Bd. III. In Kryptogamenflora von Schlesien (Bakterien). 1886.
27) van Tieghem, Traité de Botanique. I. Aufl. 1883. II. Aufl. 1891.
28) de Toni et Trevisan, Sylloge schizomycetum. Padua 1889.
29) Trenkmann, Die Färbung der Geißeln von Spirillen und Bacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VIII. 1889.)
30) Virchow, Arch. f. pathol. Anat. Bd. IX.
31) Ward, Marshall, On the characters or marks employed for classifying the Schizomycetes. (Annals of Botany. Vol. VI. 1892. No. 21.)
32) Winter, Die Pilze in Rabenhorsts Kryptogamen.
33) Woodhead, Bacteria and their products. London 1891.
34) Zettnow, Nährboden für Spirillum undula majus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1892.)
35) — —, Ueber den Bau der Bakterien. (Ibid. Bd. X. 1890.)
36) — —, Ueber den Bau der großen Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXIV. 1897.)
37) Zopf, Die Spaltpilze. 3. Aufl. 1884.

---

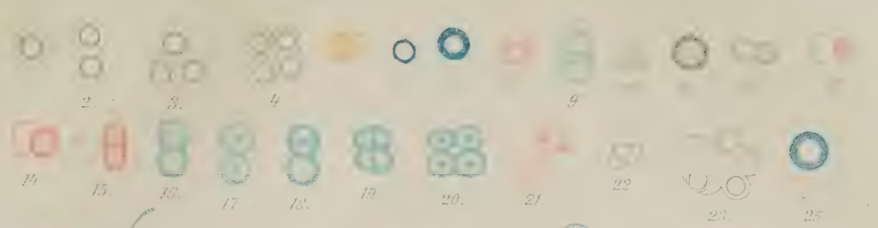
## Tafelerklärungen.

Tafel I (Sarcina urea und Streptococcus tyrogenus).

Fig. 1—24, 26—36, 40—53, 55—59, 66—67 Vergrößerung 2400.
Fig. 25, 37—39, 54, 60—65, 68—93 Vergrößerung 4000.

Fig. 1—93 (Sarcina ureae).

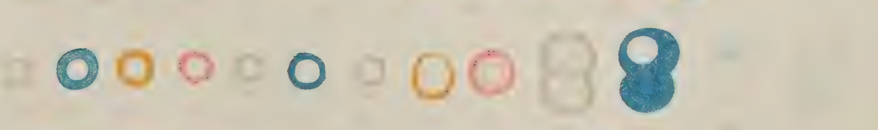
Fig. 1—4. Reife ältere Sporen, im Wasser liegend. Plasmahülle als schimmelartige Ringe zu erkennen.
„ 5. Reife Spore, mit Jodjodkalium (konzentriert) behandelt.
„ 6. „ „ „ Methylenblau (1 + 10) „
„ 7. Dieselbe wie Fig. 6, nach längerer Einwirkung des Farbstoffes.
„ 8. Reife Spore, nach der Formolfuchsinmethode behandelt.
„ 9. Spore, nach Gram gefärbt.
„ 10—15. Keimungstadien.
„ 16—20. Oïdienzellen, mit Methylenblau (verdünnt) gefärbt.
„ 21. Diplococcus, mit Formol und Fuchsin behandelt.
„ 22. Freiwerden der Spore.
„ 23. Anschwellung eines Sporangiums, wahrscheinlich vor der Auflösung desselben.
„ 24. Geißelpräparat, 16—18 Stunden alt.
„ 25. Das Freiwerden der Spore, mit Methylenblau (verdünnt) behandelt.
„ 26—27. Geißelpräparat, Kultur 16—18 Stunden alt.
„ 28—29. „ „ 40—50 „ „
„ 30. „ „ 16—18 „ „
„ 31. „ „ 40—50 „ „
„ 32. „ „ 50—60 „ „
„ 33. „ „ 6 Tage „
„ 34—36. „ „ 50—60 „ „
„ 37. Diplococcus, mit Methylenblau behandelt.
„ 38. „ „ Fuchsin „


2.
3.
4
9.
14
15.
16.
17.
18.
19.
20.
21.
22
23.
25.


27







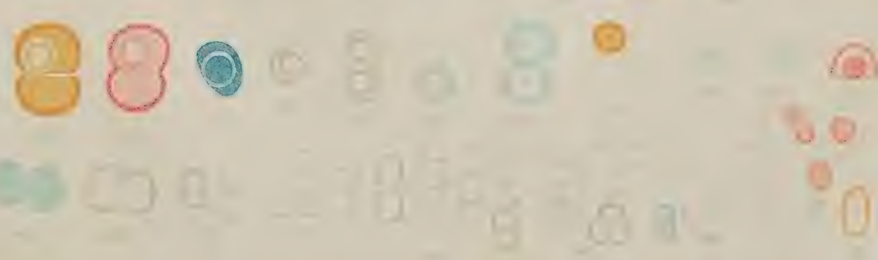




Fig. 39. Siehe Text.
„ 40—43. Oïdienzellen, mit Jod behandelt.
„ 44. Diplococcus, im Begriff sich zu teilen.
„ 45. Tetracoccus, mit Jod behandelt.
„ 46—48. Teilungsstadien.
„ 49—52. Oïdienzellen, im Begriff Sporen zu bilden, mit Methylenblau gefärbt.
„ 53. Sporangium.
„ 54a u. b. a großer asporogener Diplococcus; b derselbe nach Umdrehung um 90°.
„ 55. Tricoccus, mit jungen Sporen versehen. Mit Jod gefärbt.
„ 56—59. Stadien in der Sporenentwickelung. Mit Fuchsin gefärbt.
„ 60—65. Behandlung eines angetrockneten Diplococcus mit verschiedenen Reagentien; 60 in Wasser liegend, 61 mit Jod, 62 mit Fuchsin, 63 mit Methylenblau (1 + 10) behandelt, 64 mit Bismarckbraun, ohne vorherige Entfärbung, behandelt, 65 teilweise entfärbt, dann wieder mit Methylenblau behandelt.
„ 66. Behandlung einer Spore mit Eau de Javelle. α Nach einer 1/4-stündigen Einwirkung des Reagens angetrocknet; β dieselbe nach Behandlung mit Methylenblau (1 + 10).
„ 67. Reife Spore, mit Eau de Javelle behandelt. Siehe Beschreibung.
„ 68—71. Ein und dieselbe hüllenlose, angetrocknete Spore, mit Reagentien behandelt.
„ 72—76. Eine mit Hülle versehene Spore, mit Reagentien behandelt.
„ 77—82. Eine junge, im Sporangium liegende, angetrocknete Spore, mit verschiedenen Reagentien behandelt.
„ 83. Ein mit junger Spore versehenes Sporangium, mit Methylenblau behandelt.
„ 84—85. Junge reife Sporen.
„ 86—88. Sporenanlagen, 86 u. 87 mit Methylenblau, 88 mit Jod behandelt.
„ 89—91. Angetrocknetes, mit junger Spore versehenes Sporangium, mit Methylenblau und Fuchsin behandelt.

Fig. 94—100 (Streptococcus tyrogenus).

Fig. 94. Größe der Kokken in Nährlösung I.
„ 95. „ „ „ „ „ 3a.
„ 96. „ „ „ „ Agar-ohne-Dextrose.
„ 97. Ketten, in denen Verschiebungen stattgefunden haben.
„ 98. Kokken, mit Methylenblau behandelt.
„ 99. „ „ Karbolfuchsin „
„ 100. „ „ Jodjodkalium „

Tafel II (Spirillum giganteum [Migula]).
Vergrößerung 2400.

Fig. 1. Größe der Zellen in Nährlösung I.
„ 2. „ „ „ „ Fleischwasser.
„ 3. „ „ „ „ Nährbouillon.
„ 4. Schematische Darstellung der Länge der Zellen in einer 1 Tag alten Dextroseagarkultur.
„ 5. Zwei Zellen, mit Methylenblau gefärbt. Volutans-Kugeln blau gefärbt. Fett farblos.
„ 5a. Geißelpräparat, nach Gram gefärbt.
„ 6. Zellen, mit Methylenblau gefärbt. Geschwollene Volutans-Kugeln darstellend.
„ 7. Angetrocknete Zelle, a mit Methylenblau gefärbt, b mit 5-proz. $H_2SO_4$ entfärbt, c wieder mit Methylenblau behandelt.
„ 8. Zellen, mit Fuchsin behandelt.
„ 9. Zelle, mit Sudan behandelt.
„ 10. Angetrocknete Zelle, a mit Methylenblau gefärbt, b nach Entfärbung mit Karbolfuchsin und c nach nochmaliger Entfärbung mit Bismarckbraun behandelt.
„ 11. Angetrocknete Zelle, a mit Methylenblau, b nach Entfärbung mit Karbolfuchsin behandelt.
„ 12. Schematische Darstellung der Zellen, die aus 2—4 Windungen bestehen.
„ 13. Geißelpräparat. Siehe Beschreibung.
„ 14—15. Angetrocknete Zelle, in welcher ein Teilungsstadium dargestellt ist.
„ 16—19. Geißelpräparate.
„ 20. Verzweigte Zelle.
„ 21—25. Geißelpräparate. Stadien in der Entwickelung der Geißeln.
„ 25a. Geißelpräparat, nach Gram gefärbt.
„ 26. Geißelpräparate. Geißeln a mit Methylenblau, b mit Säureviolett, c mit Karbolfuchsin gefärbt.

Fig. 27. Zellteilungsstadien. Zellen sind nicht angetrocknet und nicht gefärbt.
„ 28. Zelle mit Verzweigung, mit Fuchsin behandelt.
„ 29. Tote Zelle mit Verzweigung.
„ 30. Ende eines langen Fadens.
„ 31. Drei Zellen, mit Plasmaverbindungen verknüpft, mit Karbolfuchsin gefärbt.
„ 32. Zwei Zellen, mittels einer langen Plasmaverbindung verknüpft.
„ 33. Eine Zelle von 2 Windungen, im Begriff, in kleinere Stücke zu zerfallen.
„ 34. Verzweigte Zelle.
„ 35. Ein Zustand der Zellteilung, a mit Methylenblau, b mit Karbolfuchsin gefärbt.
„ 36. Plasmolysierte Zellen, a und b nach Behandlung mit 3-proz. $KNO_3$-Lösung, c plasmolysiert und dann schwach mit Karbolfuchsin gefärbt.

---



# Zur Epidemiologie des Typhus abdominalis.

Von Prof. Dr. **Tavel,**
Direktor des Instituts für Infektionskrankheiten in Bern.

Mit 1 Figur.

Unter den Infektionsquellen des Typhus abdominalis spielt sicherlich das Trinkwasser die allerwichtigste Rolle.

Einige Beobachtungen scheinen darauf hinzuweisen, daß die Luft unter Umständen den Transport vermitteln kann.

Gelan hat nachgewiesen, daß die Uebertragung auch durch Kleidungsstücke von Personen, die an Typhus erkrankt waren, geschehen kann.

Neben diesen Infektionsquellen kommen noch speciell in Betracht:
Infizierte Milch,
infiziertes Eis,
infiziertes Fleisch.
Des weiteren ist die direkte digitale Uebertragung, wie sie speciell bei Krankenwärtern und Wärterinnen etc. beobachtet wird, zu berücksichtigen.

Ferner wird von Edson hervorgehoben und durch einen Fall belegt, daß das Baden in infiziertem Wasser genügt, um die Infektion herbeizuführen. Es ist aber wohl selbstverständlich, daß das beim Baden fast immer in den Mund gelangende Wasser die Infektion vermittelte und nicht der Kontakt des Wassers mit der äußeren Haut. Dieser Infektionsmodus fällt also eigentlich mit demjenigen des Trinkwassers zusammen.

---

Die Rolle des Wassers als Infektionsquelle kann in verschiedener Weise ihre Bestätigung finden:

1) Durch den Nachweis, daß das Wasser mit Typhusdejektionen verunreinigt worden ist;

2) durch den Nachweis, daß in einer Ortschaft, die z. B. von verschiedenen Quellen versorgt wird, nur die mit einem bestimmten Wasser gespeisten Häuser Typhusfälle aufweisen;

3) durch den direkten Nachweis der Typhusbacillen im betreffenden Wasser.

Der Nachweis einer Verseuchung des Wassers durch Typhusdejektionen ist bei zahlreichen Epidemieen geliefert worden, so z. B. von Edson (1),

der in 20 amerikanischen Städten, wo Typhusepidemieen aufgetreten waren, Nachforschungen anstellte und stets Verunreinigung des Wassers durch Dejektionen konstatieren konnte.

In der Epidemie von 1887—1888 in Havre, wo 697 Todesfälle vorkamen, konnte Thoinot (2) ebenfalls nachweisen, daß das Wasser infiziert worden war, und zwar durch eine 48 m dicke Bodenschicht hindurch. Fernet (3) lieferte den gleichen Nachweis bei der Epidemie von Pierrefonds im Jahre 1886. In ähnlicher Weise wurde von Pfeiffer (4) die Verunreinigung des Trinkwassers in den Epidemieen von Lüneburg und von Zehdenick a/Havel, die im Jahre 1896 herrschten, nachgewiesen und zwar auf Grund so zwingender Beweise, daß der negative Ausfall der bakteriologischen Untersuchung in keiner Weise die Schlußfolgerungen von Pfeiffer entkräftete.

In der Epidemie von Epinay war die Nachbarschaft einer Abortgrube, die das Trinkwasser infizierte, die Ursache der Infektion, wie es Charrin (5) zu eruieren gelungen ist. In gleicher Weise wurde die Infektion in der von Block (6) beschriebenen Epidemie von Beuthen und in der von Brouardel und Chantemesse (7) mitgeteilten Epidemie von Clermont-Ferrand veranlaßt.

Kimpen (8) fand, daß die Typhusepidemie in Ottweiler (1891/92) ihre Entstehung einer Infektion des die Stadt versorgenden Baches durch die Dejektionen von 8 Typhuskranken, die in einem Landhause untergebracht waren und deren Entleerungen in eine neben dem Bach gelegene Grube befördert wurden, zu verdanken hatte.

In Altenburg beschreibt C. Fraenkel (9) ähnliche Verhältnisse; er konnte durch den positiven Ausfall der Widalschen Reaktion beweisen, daß die verdächtigen Darmkatarrhe wirklich Typhusfälle gewesen sind.

Kämpfe (10) hat gezeigt, daß die Epidemie im Dorfe Ostritz durch die Infektion des Radauneflusses bedingt war.

---

Der Nachweis, daß in einer Ortschaft nur das Versorgungsgebiet einer bestimmten Leitung Typhusfälle aufweist, wurde in vielen Epidemieen geleistet.

Das Beispiel der Vanne in Paris ist eines der bekanntesten: Vallin (11) hat gezeigt, daß in der Epidemie von 1894 nur die von der Vanne versorgten Quartiere ergriffen wurden, während die Versorgungsgebiete der Dhuis, der Marne und der Seine keine Erkrankungen aufwiesen. Bucquoy (12) hat mitgeteilt, daß die betreffende Epidemie ihre Entstehungsursache in einer kleinen Epidemie hatte, die im Winter 1892—93 in der oberen Vanne bei Rigny-le-Ferron herrschte. Die Epidemie erlosch im Mai 1892, das Vannewasser wurde aber erst im Januar 1894 durch starkes Regenwetter infiziert. 3 Wochen nachher zeigten sich die ersten Fälle in Sens und Paris. In einer Vorstadt von Sens, die nicht von der Vanne versorgt ward, wurden keine Fälle beobachtet.

Aubert (13) berichtet über eine Epidemie in Bourg en Bresse, wo nur das mit Quellwasser versorgte Gebiet Typhuserkrankungen aufwies, während die mit Grundwasser versehenen Häuser typhusfrei blieben.

Banti (14) konstatiert, daß während der Epidemie von 1890 in Florenz nur die mit der Kanalisation von Monte reggi in Verbindung stehenden luxuriösen Quartiere Typhusfälle aufwiesen, während in den ärmeren Quartieren, die mit anderem Wasser versorgt waren, keine Typhusfälle

vorkamen. Eine Kontamination der genannten Kanalisation konnte leicht stattgefunden haben.

Die von Hauser und Kreglinger (15) beschriebene Epidemie in Triberg (1885/85) zeigt ähnliche Verhältnisse. Ein Bach versorgt drei Viertel der Stadt; es wurde nun nachgewiesen, daß in einer Mühle, die am Bache lag, ein Fall von Typhus vorgekommen war. Erkrankungen traten nur im Versorgungsgebiet dieses Wassers auf. Es liegt hier somit ein doppelter Nachweis vor und zwar über die Quelle der Infektion und die Beschränkung der Fälle auf das Versorgungsgebiet.

---

Der Befund von Typhusbacillen im Wasser ist zwar keine Seltenheit, wenn man die bezüglichen Angaben alle als zuverlässig gelten lassen will; daß aber in vielen Fällen dieser Nachweis auf schwachen Füßen steht, kann aus verschiedenen Fällen ersehen werden; es ist aber jetzt wohl unmöglich, mit Bestimmtheit die sicheren Fälle von den ungewissen zu scheiden. Viele Angaben lauten in ihrem Lakonismus ähnlich derjenigen von Loir, der im Leitungswasser in Paris einen Bacillus fand, der eine charakteristische Kartoffelkultur und oscillatorische Bewegungen zeigte, woraus er auf Typhus schließt.

Aus den Mitteilungen, die uns zu Gebote stehen, geht jedenfalls das hervor, daß das Auffinden der Typhusbacillen viele Schwierigkeiten bereitet und nur in Ausnahmefällen gelungen ist. Uns z. B. ist es in unserer 15-jährigen Tätigkeit nur in einem einzigen weiter unten beschriebenen Falle geglückt, Typhusbacillen im Wasser nachzuweisen. Unser Skepticismus bezüglich der Angaben über Typhusbacillen wird von Ali-Cohen (16) und speziell von Nicolle (17) geteilt, welch letzterem es in sehr zahlreichen Untersuchungen in Konstantinopel nie gelungen ist, Typhusbacillen aus Wässern zu isolieren, die sicher die Krankheit verursacht hatten.

Ganz speziell die Untersuchungen, die aus den 80er Jahren datieren, dürfen nur mit großer Vorsicht als Belegmaterial verwendet werden. Zu dieser Kategorie gehören die positiven Resultate von Michael (33) aus Jone's Laboratorium, von Moers (34), von de Blasi (35), von Galbucci (36), von Beumer (37), von P. Brouardel und Chantemesse, von Thoinot (38), von Chantemesse und Widal (39), von Henrijean (40), von Martinotti und Barbacci (41), obwohl möglicherweise in einigen dieser Fälle wirkliche Typhusbacillen vorgelegen haben mögen.

In folgenden Untersuchungen ist der Beweis der Identität der Typhusbacillen ziemlich sicher geliefert worden, zum Teil, weil damals die Differentialdiagnostik bedeutend ausgebildeter war, zum Teil, weil die Angaben der Untersucher genügende Gewähr darbieten.

Zu dieser Gruppe zuverlässiger Beobachtungen rechnen wir den Befund von Vaillard (42) in der Epidemie von Bourg en Bresse, (1888—89) von Vincent (18), der in Seinewasser im Jahre 1890 Typhusbacillen nachwies, von Géré (19), welchem es gelungen ist, im Wasser von Algier 2mal den Typhusbacillus aufzufinden. Während der Zeit der Typhusepidemie im Jahre 1890 in Budapest konnte von Fodor (20) 5mal Typhusbacillen aus dem Wasser isolieren. Loeffler, dem die Kultur zur Identifizierung zugeschickt worden war, bestätigte die Diagnose.

Sehr interessant sind die Verhältnisse der Epidemie in Fünfkirchen.

Loewy (21) fand eine bestimmte Quelle der Wasserleitung (Bischofsquelle) mit Typhusbacillen infiziert, worauf dieselbe ausgeschaltet wurde.

Da Wassermangel eingetreten war, so schaltete der Brunnenmeister von sich aus die Bischofsquelle wieder nach einiger Zeit in die Leitung ein, was einen neuen Ausbruch von Typhus zur Folge hatte, wobei nur die Quartiere, die mit Pumpbrunnen versorgt waren, verschont blieben.

Aehnliche Verhältnisse konnten in einer von Ramdohr beschriebenen Epidemie festgestellt werden.

In der Epidemie von Beuthen konnte Block (6) in zwei Proben Typhusbacillen nachweisen. Es handelt sich hier um eine Epidemie, die 1344 Erkrankungen mit 71 Todesfällen umfaßte.

Gegenüber diesen einzelnen Fällen und den Fällen von Schild (22) und Lopo de Carvalho (23), die ebenfalls positiv ausfielen, finden wir eine ganze Reihe von Angaben negativer Befunde, obgleich das betreffende Wasser ganz sicher Träger der Infektion gewesen war.

Der negative Befund erklärt sich einerseits daraus, daß nur sporadische Infektionen des Wassers vorkommen, andererseits aber aus dem Umstande, daß gewöhnlich die Inkubation der Krankheit ca. 3 Wochen dauert, so daß gewöhnlich bei Anstellung der bakteriologischen Untersuchung das Wasser längst schon von Typhusbacillen frei geworden ist.

Da außerdem wohl nicht viele Keime im Wasser enthalten zu sein brauchen und wir zur Zeit über keine gute zuverlässiee Isolierungsmethode verfügen, so erklären sich die negativen Befunde von Rietsch (43), Ali-Cohen (44), Wallichs (45), Kimpen (46), Wernicke und Bussenius (47), Nicolle, Vallin, Pottieu (48), Frankland (49), Pfeiffer etc., sehr gut auch auf Grund dieser Verhältnisse.

Die experimentellen Untersuchungen über das Verhalten der Typhusbacillen im Wasser geben ebenfalls Anhaltspunkte für das Verständnis der Schwierigkeit des Auffindens derselben.

Meade Bolton (24) findet, daß die Typhusbacillen sich im sterilisierten Wasser nicht vermehren.

Wolffhügel und Riedel (25) dagegen kamen in einer experimentellen Arbeit aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte zu dem Schlusse, daß die Typhusbacillen sich sowohl im Trinkwasser (Leitungs- und Brunnenwasser) wie speziell auch in Pankewasser vermehren können.

Frankland (26) findet eine Vermehrung in Jauche, nicht aber in Grundwasser, wo die Bacillen bald zu Grunde gehen; ähnliche Resultate erzielte Kraus (27), der in 1 cbm Wasser 57000 Typhuskeime brachte und sie 7 Tage nachher bei einer Vermehrung der anderen Wasserbakterien verschwunden fand. Karlinski (28) sah ebenfalls, daß die Typhusbacillen in nicht sterilisiertem Wasser längstens nach 6 Tagen verschwinden.

In späteren Experimenten mit Brunnenwasser findet er noch einige Typhuskeime nach 11 Tagen, nach 14 Tagen jedoch gar keine mehr.

Nachträglich noch wurde vom gleichen Autor das Verhalten der Typhusbacillen im Cisternenwasser geprüft. Er mischte Typhusstühle dem Wasser einer Cisterne bei und fand, daß die Typhusbacillen nach einigen Tagen, spätestens nach 13 Tagen, verschwanden.

Die Untersuchungen scheinen nicht ganz mit der Thatsache in Einklang zu stehen, daß unter Umständen ein Wasser sehr lange infiziert bleiben kann.

Moreau (29) z. B. studierte bei Gelegenheit der Epidemie in Boussay die Frage, wie lange die Typhusbacillen im Wasser und im Boden

lebend und infektiös sich erhalten können und kommt zu dem Schlusse, daß dies sehr lange Zeit hindurch der Fall sein kann.

Der Widerspruch zwischen diesen experimentellen Untersuchungen und der beobachteten Thatsache, daß eine Quelle, überhaupt ein Wasser, lange Zeit Träger der Infektion sein kann, scheint mir leicht erklärlich, wenn man die Untersuchungen von Lortet (30) berücksichtigt. In einer Studie über die pathogenen Bakterien des tiefen Schlammes im Genfersee findet Lortet, daß in einer Entfernung von 200 m vom Ufer und 40—50 m Tiefe im Schlamm immer Oedembacillen, Tetanus, Staphylococcus, Aureus und Coli, aber auch Typhusbacillen zu finden sind, obgleich die chemische Untersuchung des Wassers günstige Resultate ergiebt.

Wir wissen ferner, daß die Bakterien zuerst an einen Nährboden sich acclimatisieren müssen. Im Beginn tritt in jedem Nährboden, auch in den besten, eine geringe Verminderung der Zahl der Bakterien ein, in den an Nährstoffen ärmeren Medien selbstverständlich in viel höherem Grade und am meisten in destilliertem Wasser, wie es Braem (31) gezeigt hat; vakuoläre Degeneration, Verdickung, Quellung, Verlängerung oder Verkürzung der Bacillen, endlich Verlust der Färbbarkeit sind die häufigsten Erscheinungen, die dabei beobachtet werden.

Aber auch in dem Falle, wenn eine Epidemie lange andauert, braucht deshalb noch nicht das Wasser permanent infiziert zu sein; die Typhusbacillen werden vielmehr periodisch dem Leitungswasser durch Ueberschwemmungen, starke Regengüsse etc. von ihren Entwickelungsstätten aus (Senkgruben etc.) beigemengt. Dionis des Carrières (32) teilt mit, daß in einem Hofe der Typhus endemisch während einer Periode von 9 Jahren herrschte und das Auftreten der Krankheit jedesmal mit reichlichen Niederschlägen zusammentraf.

Auch die Trockenheit kann die Verunreinigung der Quellen durch Oberflächenwasser und somit durch Typhuskeime bedingen. Hier in Bern wurde seit Jahren bemerkt, daß das Ausbrechen von kleineren Epidemieen mit einer abnormen Trockenheit zusammenfiel, indem durch die im Boden entstandenen Risse an verschiedenen Stellen Infiltrationen von der Oberfläche aus stattfanden.

Da nun lange Zeit die Sanitätsbehörden aus politischen und sonstigen Größen, aber nicht aus Sachverständigen zusammengesetzt waren, wurde das Experiment wiederholt gemacht, ehe man sich entschloß, die für Eingeweihte in die Augen springenden Mißstände zu beseitigen.

---

Wir sind nun durch folgenden Fall in die Lage gekommen, den Nachweis zu liefern, daß auch in einem Wasserleitungsnetz unter gewissen Umständen Typhusbacillen sehr lange virulent bleiben können. Es handelt sich hier um eine kleine Typhusepidemie, die im Jahre 1900—1901 in Olten geherrscht hatte.

Die diesbezüglichen sehr ausführlichen Angaben verdanke ich teils der Liebenswürdigkeit des dortigen Arztes, Dr. A. Christen, teils dem Besitzer des Hauses, in welchem die Epidemie noch zu einer Zeit herrschte, während sie sonst in der Stadt bereits erloschen war.

Die Zustände werden von Dr. Christen in folgender Weise skizziert: Olten wurde von August bis November 1855 von einer ungemein schweren und ausgedehnten Typhusepidemie heimgesucht. Leider liegen keine Aufzeichnungen darüber vor; die Aerzte, die damals bethätigt

waren, befinden sich nicht mehr unter den Lebenden. Aber nach dem ganzen Gange und der Ausbreitung der Krankheit handelte es sich wohl um eine Trinkwasserepidemie (städtische Leitung).

Dann war der Ort von Typhus fast ganz verschont geblieben, mit Ausnahme von 2 umschriebenen Typhusepidemieen Ende der 60er und anfangs der 70er Jahre, die mit voller Sicherheit auf zwei infizierte Sodbrunnen zurückzuführen waren. Erst im Oktober 1878 trat eine Epidemie auf, die etwa 150 Fälle umfaßte, und sich im Verlaufe von wenigen Tagen in allen Quartieren der Stadt, die ihr Trinkwasser aus der städtischen Leitung bezogen, ausbreitete. Aehnliche Typhusepidemieen traten von da an fast Jahr für Jahr auf, oft 2—3mal jährlich bis Ende des Jahres 1893. Ihr Zusammenhang mit dem städtischen Trinkwasser ließ sich unschwer nachweisen. (Näheres über einen Teil dieser Typhusepidemieen im Korresondenzblatt für Schweizer Aerzte. Jahrg. 1890. Dr. von Arx., Die Typhusepidemie in Olten von 1879 bis 18—88. p. 340 ff.) Olten hatte im Jahre 1893—94 eine neue Wasserleitung herstellen lassen; wie es sich bei den späteren Untersuchungen herausstellte, stand das Quellengebiet bei Hochwasser in direktem Zusammenhange mit dem kleinen Flüßlein, der Dünnern. Im Sommer 1878 war in einem Hofgute in Gunzgen (ca. $^3/_4$ Stunde vom Oltener Quellgebiete entfernt) eine ungemein schwere Typhusepidemie ausgebrochen; die Exkretionen der Typhuskranken, das Badewasser etc., wurde in einen Tümpel geschüttet, dessen Inhalt dann bei Gewitterregen direkt der nahen Dünnern und so der Oltener Wasserleitung zugeführt wurde. Von Wangen, wo das Quellgebiet lag, war die Leitung in sehr großen und sehr unvollkommen hergestellten Betonröhren angelegt worden, Röhren, deren Höhlung bei dem schwachem Gefälle zum größten Teile wasserleer blieb, sich bei Dünnernhochgang füllte und mit Schlamm überzog und so eine Niststätte für Typhusbacillen bot.

Es dauerte lange, bis bei den „Vätern der Stadt“, welche die neue Leitung erstellt hatten, die Einsicht aufdämmerte, daß das Trinkwasser der Träger der Typhusinfektion sei. (Scheinbar ähnliche Verhältnisse wie in Bern. Tavel.)

Nach der Typhusepidemie von 1893 wurde die Leitung 2mal während je 24 Stunden mit frisch bereiteter Kalkmilch angefüllt und von diesem Zeitpunkt an trat kein einziger Typhusfall mehr auf bis Mitte Oktober 1900.

Im Jahre 1895 beschloß die Mehrheit der Gemeindeversammlung, entgegen dem Gutachten der Experten und Techniker und einer sehr starken Minderheit, welche ganz ideale Quellen in unmittelbarer Nähe des Ortes durch ein Pumpwerk heben wollte, die Zuleitung von Wasser aus dem Jura, aus der Schlucht zwischen Hägendorf und Bärenwyl.

Die Geologen, vor allem Professor Heim in Zürich, hatten durch oberflächliche Untersuchungen diesen für die Gemeinde verhängnisvollen Beschluß herbeigeführt, trotzdem Basel mit seinen Grellinger Juraquellen und seiner Grundwasserversorgung ein lehrreiches Beispiel lieferte.

Was man mit Sicherheit vorausgesetzt hatte, trat ein: die Hägendorfer Quellen reichten für den Bedarf des Ortes nicht aus; mit dem Wasser mußte gekargt werden; nachts über und in den oberen Quartieren des Ortes, auch größtenteils während des Tages, wurde die Trinkwasserzuleitung bei trockener Jahreszeit unterbrochen. Mit einem Schlage traten in der zweiten Hälfte des Oktober 1900, während einer Periode

großen Wassermangels ca. 20 Typhusfälle auf, sämtlich in den höher gelegenen Quartieren des Ortes, wovon die meisten in ein paar benachbarten Straßen, allerdings ganz zerstreut.

Auch jetzt konnte bei dem fast plötzlichen Auftreten der Krankheit nur das Trinkwasser der städtischen Leitung als Ursache angeschuldigt worden. Eine Infektion im Quellgebiete ist auszuschließen, dagegen lag die Möglichkeit einer Infektion im Rayon der Stadt sehr nahe.

Die Wasserleitung steht unter hohem Drucke, 5—$7^1/_2$ Atmosphären. Bei Abstellen des Wassers erfolgte in den höher gelegenen Quartieren eine stark rückwärts laufende Strömung. Aus Waschbottichen z. B., die zufällig im Momente des Abstellens durch einen Schlauch mit den Hähnen der Hausleitung in Verbindung standen, wurde durch Aspiration, wie mit einem Syphon, der flüssige Inhalt in kurzer Zeit entleert. So gelangte Schmutzwasser in die Leitung. (Im Quartiere, das die meisten Typhusfälle aufwies, war z. B. ein Insasse typhuskrank, kurz vorher von der Pariser Ausstellung heimgekehrt.) Wie leicht konnten da in der oben angedeuteten Weise Typhuskeime in die Leitung gelangen und ruhig viele Stunden lang, bei Fehlen von Druck, in derselben verweilen!

Unter den Ende Oktober 1900 erkrankten Personen befand sich das Kind G. S., Tochter des Besitzers des im Plane mit S. bezeichneten Hauses.

Während aber sonst in der Stadt von da an keine weiteren Fälle von Typhus auftraten, sehen wir, daß im Hause S. folgende Fälle sich zeigten:

Nach der Erkrankung des Kindes G. S. am 30. Okt. und das am 5. Dez. starb, wurde am 7. Dez. die Großmutter Fr. B. von Typhus befallen und blieb bis zum 2. März in Pflege. Die Mutter Tr. S. wurde am 23. Dez. bettlägerig, war aber schon ca. 2 Wochen zuvor erkrankt und starb am 8. Jan. 1901.

Darauf trat eine Pause ein.

Am 16. März 1901 erkrankte der Sohn K. S., am 12. April die Dienstmagd F. F., am 16. April die Nichte F. S. und 3 Wochen später die Krankenschwester, welche am 19. April an die Stelle der Krankenpflege besorgende Nichte getreten war. Die letzten 3 Patienten hatten die Krankheit ca. 8 Tage verheimlicht, bevor sie zur ärztlichen Untersuchung kamen, so daß das Datum der Erkrankung 8—10 Tage früher anzusetzen ist, als oben angegeben.

Sämtliche Patienten hatten trotz ausdrücklichen Verbots ungekochtes Wasser getrunken; die Mitglieder des Hauses, welche typhusfrei blieben, so besonders Herr S. selbst, der durch die ganze Epidemie „mitten im Feuer stand“, enthielten sich systematisch des Genusses von ungekochtem Wasser.

Das Haus S. ist neu und wurde vor 2 Jahren bezogen, nachdem es etwa 8 Monate lang leer gestanden und gut ausgetrocknet war. Die Kellerböden sind aus Beton.

Einige Meter hinter dem Platz, wo das Haus steht, wurde vor 15 Jahren die städtische Abfuhr abgelagert, jedoch bloß während ca. 2 Wochen. Diese Stelle wird jedoch seit 15 Jahren bepflanzt und jedes Jahr neu bearbeitet. Unter einer ca. 40 cm dicken Humusschicht befindet sich reiner Kies.

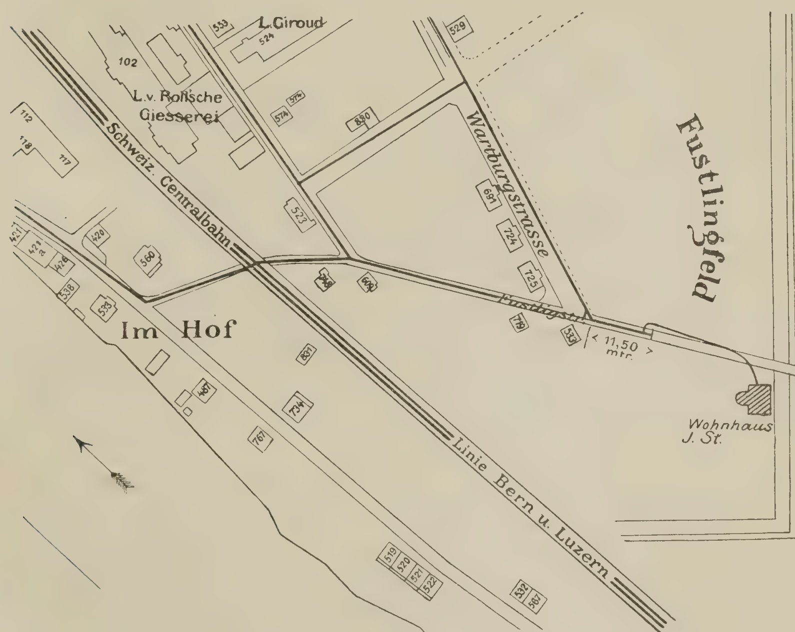
Aus diesen Angaben ersieht man, daß das betreffende Haus mit

den modernsten hygienischen Einrichtungen versehen ist. Der Bau wurde von einem Ingenieur unter Berücksichtigung aller sanitarischen Anforderungen mit großer Sorgfalt ausgeführt. Einzig die Verhältnisse der Wasserleitung können den auffälligen Umstand erklären, daß gerade dies Haus von einer so hartnäckigen Seuche befallen worden ist.

Wie man aus dem Plane sieht, zweigt sich von dem geschlossenen Leitungsnetz beim Hause 533 ein blind endigender Strang von 170 mm Durchmesser in einer Länge von 11,50 m ab.

50 cm hinter dem Schlußzapfen geht die Leitung zum Hause S. mit einem Kaliber von 40 mm.

In diesem Grundstück mußte das Wasser stagnieren, und auch bei starkem Wasserverbrauch im Hause S. wäre es nicht möglich gewesen, durch die kleine Leitung Bewegungen in dasselbe hervorzurufen.




Herr S., der diese Verhältnisse kannte, vermutete mit Recht, daß die Erkrankungen auf das Zurückbleiben von Bakterien in diesem Endstück zurückzuführen sind und er ließ die Sachlage untersuchen.

Am 29.—30. April 1901 wurde die Wasserleitung geöffnet, das schlammhaltige Wasser aus dem Endstück derselben entnommen, versiegelt und dem Institut übersandt.

Die Untersuchung ergab folgendes:

Das Wasser, in einer weißen, verkorkten und versiegelten Flasche verpackt, kommt am 3. Mai morgens im Institut an und wird sogleich verarbeitet.

Das Wasser ist ganz von gröberen und feinen gelben und rötlichen Körnchen durchsetzt, die sich sehr leicht sedimentieren. Siegel: „G. O."

Die quantitative Analyse ergiebt für 1 ccm 8000—13000 Kolonieen.

Die qualitative Analyse ergab die Anwesenheit von folgenden Bakterienarten:

Gasbildende und nichtgasbildende Coli-Arten, Proteus, Fluorescens liquefaciens und Fluorescens non liquefaciens, Bac. arborescens und Staphylokokken. Die coliformen Bacillen erwiesen sich als gewöhnlicher Coli und als typhusähnliche Bacillen; letztere werden weiter verfolgt und ergeben folgende Charaktere (Dr. Tomarkin):

Bouillon-Kultur zeigt diffuse Trübung und Bodensatz ohne Häutchenbildung. Die Bouillon bleibt hell, keine Indolreaktion, keine Gasentwickelung.

Milch wird nicht koaguliert.

Gelatine wird nicht verflüssigt.

Die Kolonieen zeigen das typische Aussehen; sind kleiner, irisierend und werden nicht allmählich bräunlich oder gelblich wie beim gewöhnlichen Coli.

Agar: grauliche Beläge.

Zuckeragar: kein Gas.

Kartoffel: typisches Wachstum, fast unsichtbarer glänzender Ueberzug, ohne Verfärbung der Kartoffel.

Die Morphologie des Bacillus stimmte in allen Punkten mit derjenigen des Typhusbacillus überein, so namentlich in Bezug auf die Beweglichkeit, die Geißelverhältnisse, die Nichtfärbbarkeit nach Gram.

Typhusserum agglutinierte die betreffende Kultur bei 1 : 10000-facher Verdünnung.

Da gerade zu dieser Zeit im Institute infolge anderweitiger Untersuchungen vielfach Typhusreaktionen angestellt wurden, so hatten wir Gelegenheit, unsere Kultur in dieser Beziehung mit verschiedenen Typhuskeimen menschlicher Provenienz zu vergleichen, so daß über die Identität des Bacillus kein Zweifel herrschen kann.

---

Dieser Befund scheint mir sehr wichtig zu sein; nicht deswegen, weil es wieder einmal gelungen ist, Typhusbacillen im Wasser nachzuweisen, was wenig Interesse haben kann, sondern weil in diesem Falle durch die Verhältnisse der Hausepidemie und den bakteriologischen Befund sich ergiebt, daß Typhusbacillen unter gewissen Umständen, mehrere Monate im Wasser lebendig, entwickelungsfähig und infektiös sich erhalten können, Umstände, die in diesem speziellen Falle durch die Stagnation im blinden Ende der Leitung gegeben waren.

Wir sehen auch, daß in Cisternen die Typhusbacillen lange Zeit hindurch vegetieren hönnen, so z. B. in der von Moreau beschriebenen Epidemte von Bounay.

Das Lebendigbleiben der Typhusbacillen im Wasser scheint jedoch nicht das Gewöhnliche zu sein, vielmehr ist die Regel, daß das Wasser durch Grubeninhalt infolge von Ueberschwemmungen, Regengüssen etc. immer wieder frisch verunreinigt wird.

Juni 1902.

---

### Litteratur.

1) Edson, The poison of typhoid fever. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. 1890. p. 94.)
2) Thoinot, Note sur l'examen microbiologique d'une source de la région calcaire du Hâvre. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1889. p. 145.)
3) Fernet, Epidémie de fièvre typhoïde de Pierrefonds. (Semaine méd. 1887. No. 20. p. 207.)
4) Pfeiffer, Typhusepidemie und Trinkwasser. (Sep.-Abd. a. Klin. Jahrb. Bd. VII. 1898.)
5) Charrin, Epidémie de fièvre typhoïde d'Epinay. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. III. 1888. p. 7.)
6) Block, Die Typhusepidemie in Beuthen (Oberschlesien). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIV. 1898. p. 924.)
7) Brouardel et Chantemesse, Enquête sur les causes de l'épidémie de fièvre typhoïde qui a régné à Clermont-Ferrand. [Sep.-Abdr.] (Ref. Baumgarten's Jahresbericht. Bd. III. p. 148.)
8) Kimpen, Die Typhusepidemie in Ottweiler im Winter 1891/92. (Centralbl. f. Bakt. etc. B. XIV. p. 768.)
9) Fraenkel, C.,
10) Kämpfe, Ueber eine durch infiziertes Hauswasser entstandene Darmtyphusepidemie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII. p. 552.)
11) Vallin, Epidémie de fièvre typhoïde à Paris. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. p. 690.)
12) Bucquoy, L'épidémie récente de fièvre typhoïde. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. p. 134.)
13) Aubert, Relation d'une épidémie de fièvre typhoïde qui a sévi sur le 23. régiment d'infanterie et sur la population de la ville de Bourg-en-Bresse en décembre et en janvier 1888—89. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IX. p. 280.)
14) Banti, L'epidemia di tifo in Firenze nei suoi rapporti con l'acqua potabile. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. X. p. 804.)
15) Hauser u. Kreglinger, Typhusepidemie in Triberg in den Jahren 1884 u. 1885. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. III. p. 369.)
16) Ali-Cohen, Experimentelle Studien über Typhusbacillen. (Baumgarten's Jahresbericht. Bd. III. p. 153.)
17) Nicolle, Nouveaux faits relatifs à l'impossibilité d'isoler, par les méthodes actuelles, le bacille typhique en présence du Bacterium coli. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. p. 552.)
18) Vincent, Présence du bacille typhique dans l'eau de Seine pendant le mois de juillet 1890. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1890. p. 772.
19) Géré, Contribution à l'étude des eaux d'Alger. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1891. p. 79.)
20) Fodor, Congrès de Londres. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. p. 121.)
21) Loewy, Die Typhusepidemie in Fünfkirchen, verursacht durch Infektion der Wasserleitung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XV. p. 236.)
22) Schild, Eine Typhusepidemie mit nachweisbarer Entstehungsursache und die Diagnose des Typhusbacillus mittels Formalin. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XVI.)
23) Lopo de Carvalho, Eine Epidemie von typhösem Fieber in Porco (Guarda). (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. p. 863.)
24) Meade Bolton, Ueber das Verhalten verschiedener Bakterienarten im Trinkwasser. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. I. p. 11.)
25) Wolffhügel u. Riedel, Die Vermehrung der Bakterien im Wasser. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. I. p. 11. — Orig. Arbeiten a. d. kaiserl. Gesund.-A. Bd. I. p. 455.)
26) Frankland, eod. loco.
27) Kraus, Ueber das Verhalten pathogener Bakterien im Trinkwasser. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. I. p. 676.)
28) Karliński, Ueber das Verhalten einiger pathogener Bakterien im Trinkwasser. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VI. p. 138.)
29) Moreau, Contribution à l'étude de l'étiologie de la fièvre typhoïde et de la vitalité dans le sol du bacille d'Eberth. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XV. p. 690.)
30) Lortet, Die pathogenen Bakterien des tiefen Schlammes im Genfer See. (Centralbl. f. Bakt. Bd. IX. p. 709.)
31) Braem, Untersuchungen über die Degenerationserscheinung pathogener Bakterien im destillierten Wasser. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. p. 183.)

32) Dionis des Carrières, Des relations de la fièvre typhoïde avec le bacille d'Eberth et avec les variations du niveau de la nappe d'eau souterraine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IX. p. 382.)
33) Michael, Typhusbacillen im Trinkwasser. (Fortschr. d. Med. 1886. p. 353. — Ref. Baumgarten's Jahresbericht. Bd. II. p. 180.)
34) Moers, Der Brunnen der Stadt Mülheim a. Rh. vom bakteriologischen Standpunkt aus betrachtet. (Baumgarten's Jahresbericht. Bd. II. p. 180.)
35) de Blasi, L'aqua potabile come mezzo di transmission della febbre tifoidea. (Ref. Baumgarten's Jahresbericht. Bd. III. p. 147.)
36) Galbucci, Ileotyphusinfektion durch Trinkwasser. (Ref. Baumgarten's Jahresbericht. Bd. III. p. 147.)
37) Beumer, Zur Aetiologie des Typhus abdominalis. (Ref. Baumgarten's Jahresbericht. Bd. III. p. 147.)
38) Thoinot, Sur la présence du bacille de la fièvre typhoïde dans l'eau de la Seine à Ivry. (Semaine méd. 1887. No. 14. p. 135.)
39) Chantemesse et Widal, Le bacille typhique. (Ref. Baumgarten's Jahresbericht. Bd. III. p. 150.)
40) Henrijean, Contribution à l'étude du rôle étiologique de l'eau potable dans les épidémies de typhus. (Annales de micrographie. Vol. II. p. 401.)
41) Martinotti et Barbacci, Presenza di bacilli del tifo nell' aqua potabile. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. p. 157.)
42) Vaillard, cit. in Aubert, l. c.
43) Rietsch, Contribution à l'étiologie de la fièvre typhoïde. (Ref. Baumgarten's Jahresbericht. Bd. II. p. 179.)
44) Ali Cohen, Typhusinfectie door Milk. (Ref. Baumgarten's Jahresbericht. Bd. III. p. 149.)
45) Wallichs, Eine Typhusepidemie in Altona anfangs des Jahres 1891. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. p. 414.)
46) Kimpen, Die Typhusepidemie in Ottweiler im Winter 1891/92. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. p. 768.)
47) Wernicke u. Bussenius, Ein Beitrag zur Kenntnis der Typhusepidemiologie. (Centralbl. f, Bakt. etc. Bd. XIX. p. 611.)
48) Pottieu, Die Typhusepidemie des Jahres 1897 in Gräfentonna. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIV. p. 585.)
49) Frankland, On the multiplication of microorganisms. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. I. p. 11.)

---



# Virulenzunterschiede verschiedener Tuberkelbacillenkulturen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der Universität zu Kolozsvár. Direktor: Prof. Dr. K. Buday.]

Von Dr. **D. Veszprémi**, I. Assistent.

Wie sehr die einzelnen Fälle der Tuberkulose, besonders die der Lungen, in Bezug auf das Fortschreiten, den Verlauf, auf die Begleiterscheinungen, auf die Schwere voneinander differieren, bedarf keiner näheren Auseinandersetzung; man kann sogar in einzelnen Fällen deren Gutartigkeit nicht verleugnen. Noch mehr sprechen dafür die Sektionsbefunde, die in vielen Fällen eine längst abgelaufene, narbig eingekapselte, verkalkte, die Tendenz zur Heilung zeigende, stationäre Tuberkulose der Lungen nachweisen.

Unwillkürlich taucht die Frage auf, von welchen Faktoren beim Hervorrufen einer solchen Neigung zur Genesung die Rede sein kann? Ob wohl nebst der Verbesserung der allgemeinen Ernährungsverhältnisse, der Pflege, Lebensweise, günstigen hygienischen Verhältnisse, nebst der Widerstandsfähigkeit des Organismus und vielen anderen noch nicht

genug erkannten und daher auch nicht zu erwägenden Faktoren nicht auch eine spezielle Eigenschaft der Ursache der Tuberkulose eine Rolle spielt? Ob doch nicht die Virulenz der von Fall zu Fall vorkommenden Tuberkelbacillen nicht ebenfalls von Einfluß auf die mehr oder minder schwere Manifestierung der Krankheit sei, bezw. ob nicht gerade die Virulenzunterschiede beim Hervorrufen dieser Differenzen etwa die wichtigste Rolle spielen? Von diesem Standpunkte ausgegangen, wäre nun die erste Frage: Ob es denn im allgemeinen einen Unterschied in der Virulenz der in den einzelnen Fällen der menschlichen Tuberkulose vorkommenden Bacillen giebt? 2) Wenn es thatsächlich einen Unterschied giebt, ob derselbe der Aeußerung der Krankheit im klinischen Verlaufe und noch mehr der pathologisch-anatomischen Veränderung entspricht und ob sie in den Organismus eines für die tuberkulöse Infektion empfänglichen Tieres gebracht, daselbst ebenfalls den gefundenen Virulenzunterschieden entsprechende Veränderungen hervorrufen?

Die Ermittelung dieser Fragen ist unseres Erachtens nach von durchaus nicht geringerer Wichtigkeit als jede andere auf die Tuberkulose bezügliche Frage. Eben deshalb ist es zum Verwundern, daß heutzutage, wo doch von so Vielen und so vielseitig an der Erforschung der Tuberkulose gearbeitet wird, die Frage der — wenn der Ausdruck gestattet — „originellen“ Virulenz der Tuberkelbacillen bisher sehr wenig der Gegenstand einer genaueren Untersuchung war und bisher so sehr wenig beachtet wurde.

Auf der Suche nach ähnlichen Forschungen in der Litteratur konnten wir insgesamt eine einzige zutreffende Mitteilung finden. Im Jahre 1898 erschien eine Mitteilung von Vagedes[1]) über seine in der Berliner Anstalt Koch's behufs Bestimmung der Virulenz der Tuberkelbacillen angestellten Versuche. Vagedes untersuchte 30erlei Tuberkelkulturen, die Fällen teils menschlicher, teils tierischer Tuberkulose entstammten. Er impfte aus 28 Kulturen je 2 Kaninchen derart, daß eines bloß die Hälfte des Quantums erhielt, das er in das andere Tier impfte. Er impfte mit 2 Kulturen je 3 Kaninchen, und zwar aus der ersten Kultur zwei mit gleichem, eines mit weniger Impfstoff, aus der zweiten Kultur alle drei mit Impfstoff verschiedenen Quantums. Außerdem wurden 2 Kaninchen mit Vogeltuberkulose und zwei mit einer alten Kultur (T.K.) geimpft. Insgesamt wurden also 66 Kaninchen durch Impfungen ins Blut infiziert. Seine Schlußfolgerungen giebt er auf Grund der gelegentlich bei Sektionen vorgefundenen Veränderungen der in Zeiträumen von 14—89 Tagen teils verendeten, teils getöteten Tiere in folgendem: „Die verschiedenen Tuberkelbacillenkulturen in gleicher Menge in die Blutbahn von Kaninchen gebracht, verursachen hier eine verschieden stark ausgebreitete Miliartuberkulose, zeigen also im Tierkörper eine verschieden starke Wachstumsenergie. Verschieden große Mengen derselben Kultur rufen eine entsprechend verschieden stark ausgebreitete Miliartuberkulose hervor“ etc.

Auf Grund seiner Versuche reiht er die miteinander verglichenen Tuberkelkulturen in Bezug auf die Virulenz in 3 Klassen: „Der ersten

1) Vagedes, Experimentelle Prüfung der Virulenz von Tuberkelbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXVIII. 1898.)

Klasse würden die Kulturen angehören, welche in einer Menge von $^1/_8$—$^1/_4$ mg in die Blutbahn von Kaninchen gebracht, bei diesen in einem 1—2 Monate umfassenden Zeitraum zur allgemeinen Miliartuberkulose führen.“ (Er fand 6 derartige Kulturen, von denen er erwähnenswerter Weise 4 wiederholt durch Meerschweinchen geführt hatte, ehe er die Reinkultur bewerkstelligte.) „Die zweite Klasse mittlerer Virulenz umfaßt diejenigen, welche in einer Menge von $^1/_4$ mg injiziert, zwar zahlreiche Knoten in den Lungen, aber nicht in den übrigen inneren Organen verursachen oder die zu 5—10 mg in die Blutbahn gebracht, eine allgemeine Miliartuberkulose verursachen. Zur dritten Klasse endlich rechnen die Stämme, von denen $^1/_4$ mg nur zur spärlichen Knotenbildung in den Lungen oder eine größere Menge — bis 10 mg — zu reichlicher Knotenbildung, aber nur in den Lungen, Veranlassung giebt“. Weiterhin „Tuberkelbacillenkulturen verschiedener Herkunft aus menschlichem Material gezüchtet, können sehr verschiedene Virulenz für Tiere besitzen“ etc.

Wir haben nur 8 verschiedene Kulturen untersucht, welche kurz charakterisiert die folgenden sind:

Kultur A. Wurde vom Král'schen Laboratorium geliefert im Jahre 1896. Daten über nähere Abstammung und Generation sind unbekannt. Vor Beginn der Versuche wurde sie durch einige Generationen auf Blutserum gezüchtet.

Kultur B. Entstammt ebenfalls dem Král'schen Laboratorium, wurde im Frühling 1898 geliefert. Ueber den Ursprung, die Generation ist nichts bekannt. Die Kulturen C, D, E, F, G, H wurden so hergestellt, daß die mit dem käsigen Material der Lungen infizierten Meerschweinchen 5 Wochen nach der Infektion getötet und aus den Knötchen der Lungen, Milz etc. die Tuberkelbacillen auf glycerinhaltigem Blutserum gezüchtet wurden.

Kultur C. Entstammt einer 26-jährigen Frau, die wegen Paralysis progressiva in der Irrenanstalt gepflegt wurde. Tuberkulose wurde klinisch nicht erwiesen. Bei der Sektion wurde eine ziemlich frische — nicht sehr ausgebreitete — Tuberkulose der Lungen gefunden.

Kultur D. Stammt von einem 21-jährigen Rauchfangkehrer, der sich seit 10 Monaten krank fühlt. Im linken oberen Lappen eine nußgroße, resistente, narbig eingezogene, mit verdickter Pleura bedeckte Partie, welche sich als ein verkäster, bröckeliger Herd erwies. In der Lungenspitze befindet sich ferner ein aus Bindegewebe bestehendes narbiges Faserwerk mit mehreren kleinen verkästen Tuberkeln, während im unteren Lappen im schiefergrauen, narbig geschrumpften Lungengewebe einige mohnkorngroße, graue Tuberkel in Gruppen zu finden sind. Die rechte Lungenspitze ist ebenfalls narbig geschrumpft; zwischen den Narben einige Tuberkel.

Kultur E. Entstammt einer 17-jährigen Tabakfabrikarbeiterin, die sich seit 3 Monaten krank fühlt. Seither hat sie großes Fieber, magert rapid ab, hustet ungemein viel. Bei der Aufnahme ins Spital war sie bereits so verfallen, daß sie tags darauf starb. Bei der Sektion befand sich in den Lungenspitzen je eine faustgroße Kaverne, deren Wand uneben, von arrodierten Blutgefäßen und Bronchien, blutreichen, blutigen Lungentrümmern, bedeckt mit käsig-schmierigem Inhalt. Sonst ist die Schnittfläche luftleer, blaß-rotgelb, von hirsekorn- bis erbsengroßen, mit ihren unregelmäßig begrenzten Konturen zusammenfließenden Tuberkeln besät, deren größere in der Mitte gelblich verkäst sind.

Kultur F. Entstammt einem 31-jährigen Schuhmacher, der seit ungefähr 1 Jahre hustet. Reichliches Sputum mit vielen Tuberkelbacillen. Bei der Autopsie wiesen die Lungen das Bild einer schweren ausgebreiteten Pneumonia caseosa auf. In den Spitzen hühnerei- bis faustgroße Höhlen. Lungengewebe luftleer, die Tuberkel zahlreich dicht nebeneinander und verkäst.

Kultur G. Entstammt einem 31-jährigen Eisenbahnschaffner. Bei ihm wurde in der chirurgischen Klinik wegen fungöser Gonitis eine Knieresektion gemacht. Autopsie ergab in der linken Lungenspitze eine haselnußgroße und mehrere kleine Kavernen mit käsigem Inhalt. In der rechten Lungenspitze ein bohnengroßer, käsiger Herd. Sonst in den blutarmen, lufthaltigen Lungen zerstreute kleine verkäste Tuberkel.

Kultur H. Entstammt einem 53-jährigen Weinschenker, der auf der chirurgischen Klinik einer schweren Gangrän des linken Fußes und Unterschenkels erlag. Tuberkulose konnte klinisch nicht nachgewiesen werden. Die Autopsie ergab einen taubeneigroßen, festen Herd im oberen linken Lungenlappen, der sich als eine mit dichtem käsigen Eiter gefüllte Kaverne erwies, die den Charakter kurzen Bestandes zeigte. Von irgend welchen Narben, Verkapselungen keine Spur, die Wand der Kaverne ist mit käsigen Gewebstrümmern bedeckt und angrenzend sind in diesem körnigen, grauen, luftleeren Lungengewebe mehrere kleine käsige Knoten zerstreut.

Von jeder Kultur haben wir je zwei — nach Bedarf sogar auch mehr — Kaninchen unter denselben Umständen in die Ohrvene subkutan geimpft. (Die Menge des gebrauchten Impfmateriales betrug ca. 3 mg). Bei den Versuchstieren haben wir nicht nur die Körpergewichtsschwankungen durch in Zeiträumen von 3 Tagen gemachte Wägungen, sondern auch das Betragen der noch lebenden Tiere nach der Infektion beobachtet. Die Sektionen führten wir mit der größten Ausführlichkeit und machten über alle Organe genaue Aufzeichnungen. Die Lungen wurden außerdem in jedem Falle histologisch untersucht und auf das Vorhandensein von Tuberkelbacillen das Hauptgewicht gelegt. Die Versuche, welche in dieser Versuchsreihe an 31 Kaninchen gemacht wurden, können wegen Mangel an Raum nicht gegeben werden, somit beschränken wir uns bloß auf die Beschreibung der von diesen Versuchen abgeleiteten Resultate resp. Folgerungen.

Die intravenös geimpften Tiere der Kultur H litten an einer sowohl hinsichtlich der klinischen als pathologisch-anatomischen und histologischen Veränderungen sehr schweren, binnen kurzer Zeit zum Tode führenden Erkrankung, obwohl es wohl entwickelte, gewichtige Tiere waren. Kultur H erwies sich, was die gesamten Erscheinungen anbelangt, als in besonderem Maße pathogen. Ein ähnliches Resultat lieferten auch die Impfungen der Kulturen E, C, F, jedoch mit leicht merklichen ausgeprägten Unterschieden. Die Kultur E verursacht nämlich ebenfalls bedeutende Abmagerung und rasche Zerstörung, die tuberkulöse Veränderung der Lungen war jedoch geringeren Grades als bei Kultur H. Noch geringer war dieselbe bei den mit Kultur C geimpften Tieren, die auch minderen Gewichtes waren als die vorherigen. Das eine, mittels Kultur F geimpfte schwerere Kaninchen jedoch blieb verhältnismäßig längere Zeit am Leben als die vorherigen und die anatomischen Veränderungen waren geringer. Wohl blieb das eine mittels Kultur C geimpfte Tier noch längere Zeit am Leben, sämtliche Veränderungen schienen jedoch noch ausgeprägter und schwerer als bei den mit

Kultur F infizierten. Diese Kulturen erwiesen sich daher insgesamt als sehr pathogen, doch nicht in gleichem Maße, denn es waren bezüglich der pathologischen Symptome und Veränderungen ziemliche Unterschiede zu erkennen. Bei einem anderen Teile der Impfungen machten wir die Erfahrung, daß die in das Blut geimpften Tiere weder so rasch zu Grunde gehen als diejenigen der vorher erwähnten Gruppen, noch zeigen sie in Bezug auf die Gewichtsverhältnisse eine auffallende Veränderung. Ferner konnten auf pathologisch-anatomischem oder histologischem Wege keine derartig bedeutenden Veränderungen nachgewiesen werden als bei jenen, weder in Bezug auf die Zahl noch auf die Größe der Tuberkel. Derartige Veränderungen geringeren Grades beobachteten wir bei den mittels der Kulturen G und D intravenös infizierten Tieren, ohne daß Gruppe D und G in den Endresultaten übereinstimmen würde. Unter den Impfungen der Kultur G nämlich ging eines spontan zu Grunde, doch erst nach 28 Tagen; das andere lebte weiter und wurde nach 57 Tagen getötet; der Gewichtsverlust war bei den Tieren von relativ geringerem Gewichte zur Genüge ausgeprägt. Tuberkelbildung konnte in geringer Anzahl in jedem Organe nachgewiesen werden. Demgegenüber erlitten die mittels Kultur D geimpften Tiere hinsichtlich des Körpergewichtes keine wesentliche Veränderung, kein Tier ging zu Grunde; die anatomischen Veränderungen sind verhältnismäßig ziemlich gering, so daß Kultur D nicht bloß bedeutend weniger pathogen befunden wurde als die zuerst erwähnten, sondern noch weniger als die Kultur G. Anderenteils muß die Wirkung der Kultur G für schwächer erklärt werden als die zuerst erwähnten. Auffallend war es hingegen, daß wir in den Lungentuberkeln der mit den 2 Kulturen infizierten Kaninchen histologisch ausgesprochene Verkalkungen fanden. Was die mittels Kultur A bewerkstelligten Infektionen betrifft, verendeten wohl 2 Kaninchen innerhalb ziemlich kurzer Zeit, tuberkulöse Veränderungen in den Lungen derselben wurden in sehr geringem Maße gefunden. Das nachträglich geimpfte Kaninchen blieb hingegen am Leben und selbst 72 Tage nachher getötet, waren in den Lungen ganz kleine Tuberkel vorhanden. Bacillen konnten bei keinem Tiere nachgewiesen werden. Auf Grund dieser Symptome muten wir der Kultur A eine sehr geringfügige pathogene Wirkung zu und diesbezüglich steht sie weit hinter sämtlichen bisher erwähnten Kulturen. Es wäre noch Kultur B übrig, deren Impfungen weder in Bezug auf die Tuberkelbildung noch auf sonst irgend welche pathogene Veränderung ein positives Resultat geliefert haben. Auch an dem Verhalten der Tiere war kein Symptom zu bemerken, das für die Erkrankung gezeugt hätte; die ziemlich kleinen Kaninchen entwickelten sich sogar und nahmen an Gewicht zu. Folglich muß Kultur B als solche betrachtet werden, die zum Hervorrufen pathologischer Veränderungen ungeeignet ist. Die nämlichen Schlüsse müssen aus den gewonnenen anatomischen und histologischen Resultaten jener Tiere gefolgert werden, die unter die Haut infiziert wurden. Zu bemerken ist jedoch, daß sich bei letzteren die Differenzen nicht in solch kurzer Zeit offenbarten als bei den in die Blutbahn geimpften und namentlich seitens der lebenden Tiere zeigte selbst die lokale Reaktion keine in Betracht kommenden Unterschiede. Auch bei den Veränderungen des Körpergewichtes konnten dieselben nicht konstatiert werden. Die anatomischen Veränderungen, resp. die Tuberkelbildung war demnach in jener Kultur von größter Anzahl und größter Masse, die wir vorher als am meisten pathogen

schilderten, und die Differenzen werden bei denjenigen geringerer pathogener Wirkung stufenweise kleiner und unwesentlicher, während Kultur B — abgesehen von den sehr unwesentlichen lokalen Veränderungen — auch hier einen negativen Befund gab. Auf Grund dieser Experimente können folglich unsere Kulturen hinsichtlich der pathogenen Wirkung in eine gewisse Reihenfolge geordnet werden, an deren Spitze als stärkste Kultur H zu setzen wäre, darauf würden der Reihe nach die Kulturen E, C, F folgen, dann die weniger pathogenen G und D, darnach Kultur A, schließlich noch Kultur B.

Die Tiere der ersten Versuchsreihe gaben sehr wertvolle Aufklärungen darüber, wie sie nach erfolgter Infektion mit den verschiedenen Kulturen durch die Schnelligkeit der Erkrankung, durch die Körpergewichtsschwankungen reagieren, als auch darüber, wie rasch sie nach erfolgter Infektion verenden. Sie gewähren ferner in dieser Hinsicht das Konstatieren und Erkennen von sehr großen Unterschieden. Obwohl selbst die anatomischen und histologischen Veränderungen seitens einzelner Gruppen entschieden differierende Resultate aufwiesen, können wir die Impfungen der ersten Versuchsreihe zum Zwecke des Vergleiches, resp. der Schlußfolgerungen von diesem Standpunkte aus genommen, für nicht eben geeignet halten. Und zwar deshalb nicht, weil bei den zu verschiedenen Zeiten verendeten Tieren die Sektion nicht in gleicher Zeit — vom Infektionstage an gerechnet — gemacht werden konnte. Selbstverständlich können solchermaßen auch die anatomischen Veränderungen weder in Bezug auf die Intensität, noch auf die Verbreitung im Organismus mit gleichem Maßstabe bemessen werden. Damit auch dieser Anforderung entsprochen werden soll, erachteten wir es für nötig, mit unseren Kulturen noch einen zweiten Versuch anzustellen, hauptsächlich zu dem Behufe, damit die nach der Infektion hervorgerufenen Veränderungen je nach der Kultur an nach gleichem Zeitverlauf sezierten Tieren zu beobachten seien.

Bei einer zweiten Versuchsreihe schien es zweckmäßig, die Impfungen mit geringerem Quantum zu vollziehen, als es im ersten Falle geschehen. Bei den vorhergehenden Versuchen machten wir nämlich die Erfahrung, daß auch solche Kulturen, die in schon erwähntem Quantum in den Blutstrom geimpft, ein rasches Hinwerden des Tieres zur Folge haben, dabei der kurzen Zeit halber natürlich dasselbe bloß mit Lungenveränderungen töten, in bedeutender Verdünnung in den Organismus gebracht, das Tier nicht so rasch umbringen, wodurch die Möglichkeit geboten wird, daß sich außer in den Lungen auch in anderen Organen tuberkulöse Veränderungen entwickeln.

In dieser zweiten Versuchsreihe — auf deren ausführliche Beschreibung auch hier Verzicht geleistet werden muß — hatten wir die Tiere so ausgewählt, daß deren Körpergewicht keine beträchtlichen Differenzen aufwies. Von jeder Kultur hatten wir je 2 Kaninchen mit genau abgemessenen Mengen in die Ohrvene geimpft — per Versuchstier $^1/_3$ mg. Ein Kaninchen hatten wir nach 27, das andere nach 57 Tagen seziert. Was das Uebrige anbelangt, so gingen wir gerade so vor, wie in der ersten Versuchsreihe.

Bei dem Vergleich der zweiten Versuchsreihe fiel es uns sogleich auf, daß bloß von den mittels der Kultur H und E infizierten Kaninchen je eines innerhalb 24 Tagen verendet ist, ferner, daß unter den 27 bezw. 57 Tage lang am Leben gelassenen Tieren ebenfalls die mittels Kultur H und E und außerdem mit C und F geimpften Tiere den bedeutendsten

Gewichtsverlust, die meist ausgeprägten und meist verbreiteten tuberkulösen Veränderungen erlitten. Diese konnten jedoch auch hier nicht in gleichem Maße nachgewiesen werden, denn zwischen den Impfresultaten der 4 Kulturen sind deutlich ausgeprägte Differenzen zu erkennen, sowohl in Bezug auf die Zahl und die Größe als auf die Verbreitung der Tuberkel im Organismus. Entsprechend den Differenzen des pathologisch-anatomischen Befundes war auch der Grad der histologischen Veränderungen ein verschiedener. Derart könnten auch auf Grund der zweiten Versuchsreihe diese Kulturen nach der Intensität der pathogenen Wirkung in eine gewisse Reihenfolge geordnet werden, in der Kultur H den ersten Platz einnehmen würde, unmittelbar darauf würde E, dann C und schließlich F folgen. Von den übrigen Kulturen verursachten wohl G, D und A keine nennenswerten Symptome, namentlich keine Gewichtsabnahme, die anatomische Veränderung ist jedoch bei den Kulturen G und D ziemlich ausgeprägt. Außer in den Lungen entwickelten sich auch in anderen Organen Tuberkel. Doch diese stehen hinsichtlich der Zahl und Größe weit hinter den Impfungen der oben erwähnten 4 Kulturen. Von den letzteren 3 Kulturen rief, miteinander verglichen, Kultur G die schwersten Veränderungen hervor, während D dieselben in geringerem Maße verursachte. Kultur A erzeugte sowohl pathologisch-anatomisch als auch histologisch auffallend geringe Veränderungen und selbst diese bloß in den Lungen. Eben deshalb erwies sich Kultur A in pathogener Beziehung auffallend und bedeutend schwächer als selbst G oder D. Eine sehr interessante und lehrreiche Präparatenserie ließ sich aus den aufbewahrten Organen der 57 Tage am Leben gebliebenen Tiere zusammenstellen, wodurch die Verschiedenheiten der anatomischen Veränderungen genau demonstriert wurden. Auf Grund dieser Daten und gestützt auf die übrigen Beobachtungen konnten die Organe in eine ähnliche Reihenfolge geordnet werden, in die die oben erwähnten Kulturen eingereiht wurden.

Wenn wir nun die Erfolge der ersten und zweiten Versuchsreihe vergleichen sollen, müssen wir jene Unterschiede außer acht lassen, die sich in den beiden Serien in Bezug auf das Quantum der Kulturen, das Körpergewicht der Tiere, die Zeitdauer und selbst auf die pathologischen Veränderungen zeigten. Das kann um so eher geschehen, da doch nur eigentlich nicht die bei den einzelnen Tieren beobachteten pathologischen Symptome zu vergleichen wären, sondern bloß die auf Grund der Impfungen gewonnenen Resultate. Beim Vergleiche der beiden Versuchsreihen wurde es auffällig, wie die seitens der einzelnen Gruppen beider Serien beobachteten Unterschiede miteinander übereinstimmen, so daß einerseits auch in der zweiten Serie die nämlichen Kulturen und im nämlichen Grade sich als meist pathogen erwiesen, wie es in der ersten Serie der Fall war; daß andererseits auch hier eben die nämlichen weniger pathogen waren, die es in der ersten Serie waren. Die Reihenfolge der Kulturen nach der Intensität der pathogenen Wirkung war also in der zweiten Serie die nämliche, wie sie es auf Grund der ersten Versuchsreihe war.

Auf welche Eigenschaft der Tuberkelbacillen wären nun die Erfolge unserer mittels verschiedener Tuberkelbacillenkulturen bewerkstelligten Impfungen und der auf Grund derselben festgestellten Unterschiede zurückzuführen, bezw. auf welche Eigenschaft derselben gestatten sie zu schlußfolgern?

Unter der Virulenz einer Bakterienart ist jene Eigenschaft der-

selben zu verstehen, die sich in der Intensität der Erkrankung, in der Schwere und der Ausbreitung sämtlicher Symptome und Veränderungen offenbart. Irgend eine Kultur muß also für desto virulenter gelten, in je größerem Grade sie zum Hervorrufen eklatanter Veränderungen befähigt ist, wenn sie in den Organismus eines lebenden Tieres gebracht wird. Virulenz bedeutet daher den Grad der pathogenen Wirkung. Es ist daher natürlich, daß, insofern der betreffende Mikroorganismus im tierischen Organismus zu einer gesteigerten Vermehrung, Verbreitung, ferner zur Produktion lokaler oder vielmehr auf den ganzen Organismus wirkender Giftstoffe fähig ist, er hierdurch solche Eigenschaften besitzt, die von der Virulenz nicht gesondert werden können. Diese Eigenschaften spielen eine bedeutende Rolle, wenn die pathogene Wirkung zur Geltung gelangen soll, und sind daher von unbedingtem Einfluß auch auf den Grad derselben. Vom Tuberkelbacillus ist es bekannt, daß er zufolge seiner langsamen Vermehrungsfähigkeit, selbst wenn er in den Blutstrom gelangt, auch in relativ großer Zahl keine Septikämie verursacht, sondern anatomisch und histologisch charakteristische Veränderungen. Die mehr oder minder schwere Natur derselben, die Differenz der Zeitdauer, die in den Ernährungsverhältnissen des Organismus merkbaren Veränderungen, folglich sämtliche Erscheinungen geben Aufklärung über die Virulenz. Selbstverständlich müssen bei den Tuberkelbacillen nebst der Wachstumsenergie auch der Einfluß der giftig wirkenden Stoffwechselprodukte auf die pathologischen Symptome in Betracht gezogen werden, wovon wir bei unseren Versuchen uns zu überzeugen Gelegenheit hatten. Von der Menge der Bakterien, den auf die Infektionsstelle bezüglichen Bedingungen kann, da sie bei den einzelnen Gruppen die nämlichen waren, abgesehen werden. Vom Gesichtspunkte unserer Versuche müssen dennoch einige Bemerkungen bezüglich der Widerstandsfähigkeit des Organismus gemacht werden. Unstreitig kann auch ein schwächeres Virus in einem Organismus von geringer Widerstandsfähigkeit bedeutendere Veränderungen hervorrufen als im entgegengesetzten Falle und vice versa. Doch ebenso berechtigt ist auch die Annahme, daß ein mit irgend welcher Widerstandsfähigkeit ausgestatteter Organismus desto schwerere Veränderungen zu erleiden vermag, je bedeutenderen Grades die krankheitserregende Eigenschaft des Virus ist. Es kann daher der in gehöriger Weise kaum zu erwägende Umstand durchaus nicht außer acht gelassen werden, nämlich die Widerstandsfähigkeit des Organismus, doch ist seine Wichtigkeit um so geringer, in je mehr Fällen das Impfresultat der nämlichen Kultur übereinstimmt. Die daraus etwa entstandenen Fehler und Irrtümer können leicht reduziert werden, wenn das Resultat mehrerer in gleicher Weise mit gleichem Virus hergestellten Versuche verglichen wird, wobei jeder Umstand, jedes Symptom, das auf dieselben von Einfluß ist, in Rechnung kommen muß. Somit können wir annehmen, daß die Versuche über die Virulenz unserer Kulturen Aufklärung gaben. Und zwar ordnen sich die Kulturen jetzt auch nach dem Standpunkte der Virulenz, wie wir dieselben oben aufgezählt; die Kultur A ist für kaum virulent und die Kultur B für vollständig avirulent zu erklären.

Bei unseren Versuchen hatten wir solche Beobachtungen gemacht, welche auf eine sehr wichtige Eigenschaft der Tuberkelbacillen Schlüsse gestatten (Koch, Maffucci), nämlich daß die Tuberkelbacillen in ihren Kulturen und in gehörigem Quantum in den

tierischen Organismus gelangt, möglicherweise auch in demselben zur Produktion solcher Stoffe fähig sind, die gleichsam giftig auf den Organismus wirken. Folglich bringen auch die Tuberkelbacillen — gleich anderen Bakteriengattungen — einen toxinartigen Stoff hervor, der unter geeigneten Umständen und Bedingungen auf die Schwere der Infektion von Einfluß ist. Schließlich ist durch den Befund, daß bei einigen mit der Kultur geimpften und kürzere Zeit am Leben gebliebenen Tieren die Tuberkel im allgemeinen in größerer Zahl vorhanden waren als bei dem zu gleicher Zeit und Weise infizierten anderen Tiere, das später seziert wurde (A, D), weiterhin durch jenen Umstand, daß bei einigen Tieren die Tuberkel der Lungen auch eine histologisch ausgesprochene Verkalkung aufwiesen (bei D, G), bewiesen, daß die Tuberkel zur spontanen Rückbildung und bei den Impfungen mit einer speziellen Kultur daher auch zur Ausheilung fähig sind. Wie wesentlich diese Eigenschaft bei einigen Tuberkelbacillenkulturen vom Standpunkte der experimentellen Tuberkulose sei, ist wohl überflüssig, weitläufiger zu erörtern.

(Schluß folgt.)

---



# Dritter Bericht über die Surra-Krankheit der Rinder und Pferde im Schutzgebiete Togo.

Von Dr. **Schilling**, K. Regierungsarzt, Togo.

Mit 1 Kurve.

Anknüpfend an meine Berichte in diesem Centralbl. (Abt. I. Bd. XXX. p. 545 und Bd. XXXI p. 452), sowie im Deutschen Kolonialblatt (1902. Heft 13, 14 und 15) habe ich nachzutragen, daß die Versuche in Topli (s. Bd. XXXI. p. 458) ergeben haben, daß 1—3malige Passagen der Surra-Parasiten durch den Hundekörper nicht mit Sicherheit genügen, um dieselben für die Immunisierung von Rindern geeignet zu machen.

## Beobachtungen an Pferden.

Ich hatte aus dem Hinterlande nach der Küste 7 Pferde gebracht, bei welchen Surra schon in Atakpame konstatiert worden war. Diese Tiere sind sämtlich eingegangen.

Hierzu gehören weiter 2 Pferde, welche kurz nach ihrem Eintreffen an der Küste, und zwar bereits 17—20 Tage nach dem erstmaligen Nachweis der Parasiten im Blute, zu Grunde gingen, also wahrscheinlich schon früher erkrankt waren. Bei 2 weiteren setzte die Erkrankung wenige Tage nach dem Eintreffen an der Küste mit akutem Fieber und Auftreten von Parasiten im peripheren Blute ein und führte in 61 resp. 63 Tagen zum Tode. 9 weitere Tiere blieben normal und wurden zu Experimenten verwendet. Da meine Reise zur Küste auf der Höhe der Trockenzeit erfolgte, wo die Tsetsefliege nicht häufig ist, mag es wohl erklärlich sein, daß diese Tiere bis zur Küste gelangten, ohne infiziert zu werden. Auf der schmalen Sanddüne zwischen Meer und Lagune, wo die Tsetsefliege überhaupt nicht vorzukommen scheint, hielten sich die Pferde gut, eines davon z. B. bis zu 111 Tagen.

Sie kamen aber auch niemals über die Lagune hinaus, hatten also keine Gelegenheit, von Tsetsefliegen gestochen zu werden. Dieses Experiment scheint mir dafür beweisend zu sein, daß kein anderes blutsaugendes Insekt — es giebt auf dem Küstenstreifen verschiedene Stechfliegen, und Infektionsmaterial wäre hinreichend vorhanden gewesen — die Krankheit überträgt, als allein die Tsetsefliege.

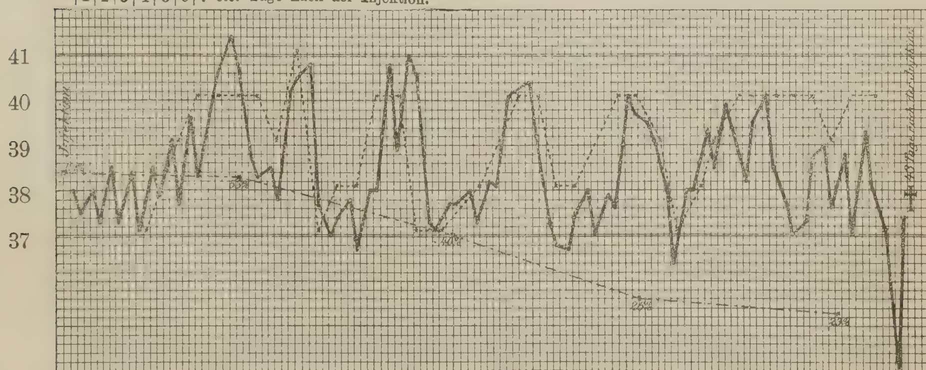
Hier mag auch eine andere Beobachtung Platz finden, welche bestätigt, daß auch Flöhe, Zecken u. s. w. die Krankheit nicht weiterverbreiten: im Januar d. J. kaufte ich einen Hund, derselbe wurde mitten unter die anderen infizierten Hunde hineingesetzt und blieb mit ihnen zusammen bis Anfang Mai. Als derselbe dann getötet wurde, fand sich in Blut und Organen, speziell im Knochenmark, auch nicht ein einziges *Trypanosoma.*

5 Versuche an Pferden, Immunität durch Einverleibung von Parasiten, welche Hundepassagen durchgemacht hatten, zu erzielen, schlugen vollständig fehl. 3 Pferde wurden mit der fünften, 2 Pferde mit der achten Hundepassage infiziert: sämtliche Tiere erkrankten an typischer Surra.

Genau ebenso verliefen 2 Versuche, zu welchen Passagen abwechselnd durch Hunde und Ratten gewählt worden waren. Sowohl auch 3maliger, wie nach 6maliger Passage war eine Erkrankung an Surra die Folge der Impfung. Auch das Rind ist als Passagetier nicht geeignet: Parasiten erzeugten nach 4maliger Passage durch den Körper des Rindes beim Pferde einen typischen Anfall von Surra.

Als ich am 13. Mai von Kleinpopo nach dem Innern aufbrach, nahm ich ein Pferd mit mir, welches bereits den Weg von Sokodé nach der Küste gemacht und dort sich 3 Monate hindurch vollkommen gesund erhalten hatte. Am 22. Mai fanden sich Parasiten im Blute dieses Tieres, dasselbe ging am 16. Juni ein. Die Inkubationszeit ist also bei natürlicher Infektion nicht länger als 9 Tage.

Die Dauer der Krankheit schwankt innerhalb der Grenzen von 43 Tagen und mehr als 8 Monaten. Am schnellsten gingen die Tiere nach künstlicher Infektion ein (43, 54, 54 u. 55 Tage). Auch nach dem Fieberverlauf und der Zahl der im peripheren Blute kreisenden Parasiten




——— Körpertemperatur.
- - - - - Relative Zahl der Parasiten im peripheren Blute. (37 = 0; 41 = massenhaft.)
-- · -- · -- Hämoglobingehalt des Blutes (Fleischl).
11. März 1902 Injektion von Peritonealexsudat vom Hunde (massenhaft Parasiten).

läßt sich ungezwungen eine akute Form (siehe die Kurve) und eine chronische Form unterscheiden. In einem solchen chronischen Falle, welcher innerhalb 4 Monaten tödlich verlief, erhob sich die Temperatur während 86-tägiger Beobachtung nur 4mal plötzlich bis 39,0—39,4; bei 21 Blutuntersuchungen fanden sich 3mal sehr spärliche Parasiten. Auf die Dauer solch chronischer Fälle ist die Inanspruchnahme des Pferdes von großem Einfluß. Bei vollkommener Ruhe und gutem Futter vermögen sich solche Tiere sogar wesentlich zu erholen. Trotzdem gehen sie nach künstlicher Infektion ein, sind also nicht, wie es den Anschein haben könnte, immun geworden. — Sehr bemerkenswert ist ferner ein Fall, wo ein Pferd seit 1 Jahr auf der Station Sokodé gehalten wurde, ohne, wie seine Stallgenossen, zu erkranken. Mehrfach wurden in seinem Blute, teils direkt mikroskopisch, teils durch erfolgreiche Uebertragung seines Blutes auf Hunde, Parasiten nachgewiesen. Trotzdem trug mich eben dieses Pferd nach der Küste, ohne Zeichen von Ueberanstrengung, und ohne daß die Erkrankung in ein akutes Stadium übergegangen wäre. Weitere Nachrichten über dieses Tier dürften darüber Aufklärung geben, ob es sich hier doch einmal um einen Fall von aktiver Immunität gehandelt habe oder nicht.

Ebenso stehen noch Nachrichten aus über ein Pferd, das mit durch Wärme abgetöteten Parasiten behandelt worden war. 13 Wochen nach der ersten Injektion und nach einem ziemlich anstrengenden 14-tägigen Marsch durch notorisch verseuchte Gebiete war es noch vollkommen frisch, auch frei von Parasiten.

### Versuche an Rindern.

In Kleinpopo wurden von 2 jungen Stieren, welche dort geboren waren und nie krank gewesen sein sollen, einer mit Parasiten, welche acht und mehr Passagen durch Hunde, der andere mit Parasiten, welche ebensoviele Passagen, durch Ratten und Hunde abwechselnd, durchgemacht hatten, geimpft. Es wurden innerhalb 34 und 35 Tagen bei beiden Tieren je 3 Injektionen mit wechselnden Mengen von Peritonealexudat von Hunden gemacht. Niemals fanden sich Parasiten im Blute dieser Tiere. Beide Rinder zeigten 14 resp. 15 Tage nach der letzten Impfung die charakteristische parasiticide Eigenschaft des Blutserums, indem die Trypanosomen in einem Gemisch von Serum und parasitenhaltigem Peritonealexsudat zu gleichen Teilen nach 13 resp. nach 25 Minuten vollkommen abgetötet waren.

Die Reaktion stelle ich in folgender Weise an: In je eine Pravaz-Spritze wird aufgezogen: 1) eine Probe von Peritonealexsudat eines vor etwa 7 Tagen mit Surraparasiten intraperitoneal geimpften Hundes (Kontrolle I). 2) eine kleine Quantität des zu prüfenden Serums, dann eine ebenso große Quantität des Peritonealexsudates. Gut mischen, zur mikroskopischen Prüfung nicht den Inhalt der Kanüle verwenden! 3) am Schlusse eine Kontrolle II des Peritonealexsudates. Aufbewahren der Spritzen im Dunklen. Durch Vergleich der beiden Kontrollen und der zwischen beiden angefertigten Mischung ergiebt sich ein klares Resultat über die Wirkung innerhalb der ersten 30 Minuten; darüber hinaus sind auch die Kontrollparasiten meist schon etwas verändert.

Die etwas schwächere Serumwirkung war bei demjenigen Rinde eingetreten, welches mit Hund-Ratte-Passagen geimpft worden war. — Diese Tiere nun wurden Anfang Mai nach Topli (s. o.) gebracht. Dieselben gediehen bis zum 17. Juni sehr gut. Während einer Abwesenheit des weißen Zollbeamten jedoch sind beide Tiere in derselben Nacht plötzlich im Stalle verendet. Ich glaube nicht fehlzugehen, wenn

ich in diesem Falle eine zufällige Todesursache annehme; leider sind deshalb aber diese Versuche zur Kritik der Immunisierungsmethode nicht zu verwerten.

In Sokodé wurde ein Immunisierungsversuch an 36 Rindern angestellt. Die Parasiten, welche hierzu verwendet wurden, hatten zuerst je 7mal abwechselnd den Hunde- und Rattenorganismus passiert, waren dann weiter ausschließlich auf Hunde verimpft worden und stellten so die 18.—21. Passage durch Hunde, resp. Ratten, dar. Zu den 2- bezw. 3-maligen Impfungen wurden wechselnde Mengen (0,5—10 ccm) des Peritonealexsudates von Hunden, das immer große Mengen von Parasiten enthielt, verwendet. Von 24 Rindern zeigten 12 am 10. Tage nach der ersten Impfung Parasiten im peripheren Blute; die Menge derselben war bei allen eine sehr geringe, bei 10 waren sie auch nach 1—2 Tagen wieder verschwunden. Bei einer unter 5 Kühen war am 9. und 13. Tage nach der 2. Impfung je 1 *Trypanosoma* in einem Präparate zu finden, die übrigen blieben frei. Bei einem Rinde trat 5 Tage nach der 1. Injektion eine Temperatursteigerung bis 40,3 ein, welche in 3 Tagen zur Norm abfiel; am selben Tage fand sich auch ein einziger Parasit, von da ab blieb, und zwar auch nach der 2. Injektion bedeutend größerer Mengen von Trypanosomen, die Temperatur dauernd normal und es fanden sich auch keine Parasiten mehr im Blute.

8 von den vorbehandelten Tieren konnte ich später, 21 resp. 36 Tage nach der letzten Impfung, auf die parasiticide Eigenschaft ihres Blutserums untersuchen. Bei 5 davon waren sämtliche Parasiten nach 20 Minuten abgetötet, bei einem war eine schwache, bei zweien gar keine Einwirkung des Serums zu konstatieren. Welche Faktoren bei der Entstehung dieser Differenz maßgebend sind, kann ich zur Zeit bei dem geringen Material noch nicht sagen, doch liegen dieselben nicht in der Menge der eingespritzten Parasiten oder in dem Zeitraum, der seit der ersten oder letzten Impfung verstrichen ist.

Von den vorbehandelten Rindern blieben 19 in Sokodé, 9 wurden nach Station Atakpame und 8 nach Misahöhe und dem Versuchsfeld der Baumwollexpedition des kolonialwirtschaftlichen Komitees in Tove gebracht — alles Plätze, an welchen im Vorjahre sämtliche Rinder, die aus dem Norden eingeführt worden waren, an Surra verendet waren. Nach Berichten von Anfang Oktober befinden sich diese Tiere gut und in Tove leisten 5 Ochsen brauchbare Feldarbeit; doch ist die Zeit noch zu kurz, um daraus irgend welche Schlüsse ziehen zu können. Erst am 1. März 1903 wird dieser Versuch als abgeschlossen betrachtet werden können. Er wird Auskunft geben über folgende Fragen:

1) Wird die Impfung an sich von den Tieren ohne dauernden Schaden vertragen?

2) Welcher Prozentsatz von Rindern kann durch die Impfung in verseuchtem Gebiete am Leben erhalten werden?

3) Sind bestimmte Rinderrassen oder -kreuzungen zur Immunisierung mehr geeignet als andere?

4) Verdient eine der Modifikationen, welche beim Versuch in Anwendung kamen, den Vorzug?

5) Ist die parasiticide Eigenschaft des Blutserums ein Maßstab für die eingetretene Immunität?

Bei der Beurteilung des Resultates dieses großen Versuches wird man auch den Koeffizienten der individuellen Verschiedenheiten der einzelnen Versuchstiere mit in Rechnung zu ziehen haben; daß be-

trächtliche Schwankungen in dieser Beziehung vorkommen, haben meine bisherigen Versuche in einer Reihe von Fällen unzweideutig ergeben.

Die Parasiten halten sich nach künstlicher Infektion, auch wenn sie überhaupt nie oder schon lange nicht mehr mikroskopisch nachweisbar waren, trotzdem noch für einige Zeit im cirkulierenden Blute auf. So war das Blut von 4 Rindern, 4 Wochen nach der Impfung auf Hunde übertragen, noch infektiös.

Versuche, wie vieler Hundepassagen es bedarf, um die Parasiten derart umzustimmen, daß sie eine tödliche Erkrankung beim Rinde nicht mehr hervorrufen, sind noch nicht abgeschlossen.

Die Temperaturkurve beim Rinde — nach 5-maliger Rinderpassage — ist eine im ganzen kontinuierliche, das Fieber setzt allmählich ein, die Abendtemperaturen halten sich während der ersten 36 Tage zwischen 39,5 und 41,3. Einige Tage vor dem Tode finden sich noch größere Exkursionen (38,2—40,6); der Tod des betreffenden Tieres erfolgte am 41. Tage nach der Impfung bei erhöhter Temperatur. Die Zahl der Parasiten war stets eine geringe, vielfach war die mikroskopische Untersuchung negativ, kurz vor dem Tode aber fanden sich massenhafte Parasiten. Die Schwankungen zwischen Morgen- und Abendtemperatur sind zum Teil sehr hohe (37,6—41,0). Diese letzteren Differenzen bildeten sich besonders beim 3. Passage-Rind etwa nach dem 40. Tage post infectionem deutlich aus. Dieses Tier lebte noch am 63. Tage. Dieser Unterschied zwischen 3. und 5. Rinderpassage kann vielleicht auf eine Steigerung der Virulenz der Parasiten zurückgeführt werden.

## Versuche an Eseln.

In Sokodé fand ich einen spontan erkrankten Esel vor, welcher nach 25-tägiger Beobachtung einging. Schon daraus geht hervor, daß der Esel des Sudan (die Artbestimmung soll nach mitgebrachten Schädeln demnächst erfolgen), welcher hier zu Transportzwecken ausgedehnte Verwendung findet, der Surra unterworfen ist. Es muß sich also hier um eine Rassenverschiedenheit gegenüber den ostafrikanischen Eseln handeln, bei welchen Koch die künstliche Infektion nicht gelang (Reiseberichte. p. 88). Doch möchte ich bemerken, daß das Einbringen von Surrablut in eine kleine Hautwunde am Ohr bei einem meiner Versuche erfolglos blieb. Von dem erwähnten, spontan erkrankten Tiere wurden nun Passagen durch Esel angelegt und zwar wurden immer ziemlich bedeutende Mengen von Blut (bis 10 ccm) subkutan verimpft. Sämtliche 5 Tiere gingen zwischen dem 11. und 18. Tage nach der Einspritzung unter den Erscheinungen schwerer Allgemeininfektion ein (Fieber mit remittierendem Typus). Die Sektion ergab nichts, was man als für die Krankheit typisch bezeichnen könnte. Die Parasiten vermehrten sich schnell (Inkubation ca. 4 Tage) und zu ungeheuren Mengen. Daraus geht hervor, daß der Sudanesel wesentlich empfänglicher für Surra ist als das Pferd.

Wenn man nun erwägt, daß zur Schutzimpfung von Rindern ein Parasitenstamm verwendet wird, welcher infolge von Passagen durch Tierarten, die wesentlich empfänglicher für Surra sind als das Rind (Ratte, Hund), derartig „umgestimmt“ wurde, daß er seiner ursprünglichen, für das Rind tödlichen Eigenschaften beraubt wurde, so liegt der Gedanke nahe, daß auch für die Immunisierung der Pferde das gleiche Prinzip Giltigkeit habe, daß es sich also darum handle, eine Tierart zu finden, die wesentlich empfänglicher ist als das Pferd.

Ich habe aus diesem Grunde die Parasiten von der 6. Eselpassage zurückgeimpft auf ein kleines gesundes Pferd; dasselbe erkrankte akut an Surra, doch ist die Kurve etwas ungewöhnlich (mehr kontinuierliches Fieber). Das Tier war am 21. Tage nach der Impfung noch „ziemlich wohl", wie mir Dr. Kersting aus Sokodé schrieb. Am 18. Tage waren keine Parasiten mehr nachzuweisen.

Da ich diesen Weg aus den oben erwähnten Gründen für aussichtsvoll halte, sollen die Versuche in dieser Richtung wieder aufgenommen werden.

---

Von der Gattung *Glossina* (Tsetsefliege) kommen alle 3 Arten in Togo vor (*Glossina longipalpis* Wiedem. = *morsitans* Westw., *tachinoides* und *tabaniformis*). Da meine letzte Reise ins Hinterland in die Regenzeit fiel, konnte ich ziemlich viele Exemplare der ersten beiden Arten fangen, während ich *Glossina tabaniformis*, die größte Art, nur an einem einzigen Bachübergange in wenigen Exemplaren fand. Die Blutgier und Hartnäckigkeit dieser Quälgeister ist so groß, daß ich mir nicht vorstellen kann, auf welche Weise es möglich sein sollte, Vieh oder Pferde sicher und dauernd gegen dieselben zu schützen.

Außer den *Glossina*-Arten finden sich *Stomoxys*, die namentlich die Esel entsetzlich quälten, ferner 3 Arten Tabaniden (*Tabanus*, *Haematopota*, *Chrysops*) und *Hippobosca rufipes* v. Olf. (Wiedem.).

Die Bestimmung der Fliegen verdanke ich dem Zoologischen Museum in Berlin (Herrn Dr. Grünberg).

---

Nach den in meinen bisherigen Veröffentlichungen niedergelegten Resultaten glaube ich mich zu dem Ausspruche berechtigt, daß das Prinzip der Immunisierung gegen die afrikanische Tsetsekrankheit (Nagana) gefunden sei: Die Eigenschaft des Naganaparasiten, sich seinem jeweiligen Wirte anzupassen, wird benutzt, um ihn in seiner Virulenz für eine bestimmte Tierart abzuschwächen. Es wird sich nunmehr darum handeln, die Methode weiter auszubauen, sie zu variieren oder zu vereinfachen, vielleicht auch wirkungsvollere Abänderungen einzuführen. Hoffentlich bestätigt sich meine Erwartung, daß dasselbe Prinzip, wenn auch in irgend einer Modifikation, auch auf Pferde anwendbar sei.

Mit der Nachprüfung meiner bisherigen Versuche, mit der Ausfüllung der Lücken, speziell mit Experimenten über die Art und Weise der Entstehung der Immunität und der Bildung der parasiticiden Stoffe im Serum bin ich zur Zeit im kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin beschäftigt, hoffe auch, demnächst meine bisherigen Berichte, die ja der Natur ihrer Entstehung nach immer nur Bruchstücke darstellen konnten, zu einem mehr einheitlichen Ganzen zusammenziehen zu können.

Ich möchte die Gelegenheit nicht vorüber gehen lassen, um an dieser Stelle meinen Dank auszusprechen für die verständnisvolle Unterstützung, die ich seitens aller Herrn Stationsleiter des Togogebietes, ganz besonders aber bei meinem verehrten Kollegen Herrn Dr. Kersting-Sokodé gefunden habe.

Berlin, November 1902.

---

# Der Bacillus des seuchenhaften Verwerfens.

Von Prof. Dr. **Hugo Preisz** in Budapest.

Mit 4 Figuren.

Im 1. Bande der „Zeitschrift für Tiermedizin" (1897) veröffentlicht Bang jene Untersuchungen, die er in Mitarbeiterschaft von Stribolt über die Aetiologie des seuchenhaften Verwerfens anstellte. Er fand in den kranken Geweben, zuweilen ausschließlich, eine Bacillenart, die sich durch ihr eigentümliches Verhalten dem Sauerstoff gegenüber auszeichnete, und mit deren Reinkulturen es ihm gelang, bei verschiedenen Haustieren durch Einimpfung in die Blutbahn oder per vaginam die Krankheit zu erzeugen.

Aus dieser wichtigen Arbeit geht hervor, daß dieser eigentümliche Mikroorganismus — dessen ätiologische Rolle beim seuchenhaften Verwerfen durch Bang sichergestellt ist — näherer Untersuchungen würdig ist. Ich benutzte daher die Gelegenheit, die sich mir dazu bot.

Im Herbste des Jahres 1901 erhielt ich aus einer Wirtschaft des Komitates Komárom Uterussekret einer Kuh behufs Ermittelung, ob seuchenhaftes Verwerfen vorliege oder nicht.

Laut Begleitschreiben des Einsenders stellte sich der Abortus in einem Kuhbestande von 100 Stück in folgender Ordnung ein. Im Oktober 1900 bezogen die Tiere einen neugebauten Stall, und im November verkalbte eine Kuh. Trotz strenger Absonderung der Kranken und trotz sorgfältiger Desinfektion kam im Mai 1901 die Seuche doch zum Ausbruch mit je einem Abortus in Zwischenräumen von 2—3 Wochen, im 4.—8. Monate der Trächtigkeit.

Das mir am 28. September eingesandte Sekret entstammte einer Kuh, die am 17. desselben Monats verwarf; es war eine dünne, trübe Flüssigkeit mit zahlreichen kleinen Flocken, die, zwar keine Zeichen einer Fäulnis verratend, mikroskopisch doch verschiedene Bakterien aufwies, was um so natürlicher erscheinen muß, da ja eine Entnahme des Sekretes ohne Beimengung fremder Keime, namentlich für den Unkundigen, fast unmöglich ist, fremde Keime aber während des Transportes sich leicht vermehren konnten. Hiervon abgesehen aber enthielt das Sekret in weit überwiegender Mehrzahl, teils zerstreut, teils in kleinen oder größeren dichten Häufchen oder in Zellen ein sehr kleines, kurzes und dünnes Stäbchen, welches eben zufolge seiner Massenhaftigkeit den Verdacht einer ätiologischen Bedeutung erwecken mußte, und welches seiner Form nach dem Bang'schen Abortusbacillus entsprach.

Durch Bang's Forschungen war es bekannt, daß dieser Bacillus nur in einem Medium gedeiht, dessen Gehalt an Sauerstoff entweder etwas geringer oder aber bedeutend höher ist, als jener der atmosphärischen Luft. Ich bediente mich zur Isolierung des Abortusbacillus einer sauerstoffreichen Umgebung auf folgende Weise.

Eine Platinöse des Uterussekrets wurde auf 3 schiefe Agarröhrchen verteilt (gewöhnlicher Agar mit Pepton und Kochsalz), dann führte ich bis nahe an das Kondensationswasser ein dünnes Glasrohr in die Agarröhrchen und leitete durch selbes reinen Sauerstoff so lange, bis man ein Verdrängen der Luft durch letzteren annehmen konnte; nachher wurde das Agarröhrchen mit einem kurzen (auch während der Sauer-

stoffeinleitung an der Oeffnung gehaltenen) Wattepfropf schnell geschlossen und mittels Siegellack luftdicht gemacht.

Bei 37° C entwickelten sich auf diesen Agarflächen am 1. und 2. Tage verschiedene Kolonieen, deren jedoch keine die von Bang beschriebenen und die von mir im Sekrete gefundenen kleinen Stäbchen enthielt. Erst am 3. Tage erschienen in einem Röhrchen, in der Umgebung einiger großer Kolonieen zahlreiche ganz kleine, nur mit der Lupe wahrnehmbare Kolonieen mit einem äußerst feinen weißen Pünktchen im Centrum und mit durchsichtigen zarten Rändern.

Diese zarten Kolonieen bestanden aus feinen Stäbchen, die jenen, im Trockenpräparate zahlreich gefundenen, glichen; sie bildeten den Gegenstand meiner weiteren Untersuchungen.

Traubenzuckeragar, wie er zur Züchtung von Anaëroben gebraucht wird, wurde verflüssigt, und nach Abkühlung auf etwa 40° C wurde in den noch flüssigen Nährboden von jenen Kolonieen abgeimpft und gründlich vermengt, dann erstarren gemacht. Nach 24 Stunden (bei 37° C) war noch kein Wachstum sichtbar; nach 2 Tagen aber zeigte sich bereits das von Bang beschriebene eigentümliche Verhalten des Abortusbacillus dem Sauerstoff gegenüber. Der oberste, etwa 7—15 mm hohe Teil der Agarsäule blieb vollkommen durchsichtig, ohne eine Spur einer Kolonieenbildung; unter dieser klaren Schicht folgte eine 1—2 mm dicke, mit zahlreichen punktförmigen Kolonieen besäete Schicht. Die unterhalb dieser letzteren Schicht gelegene Agarsäule enthielt ihrer ganzen Höhe nach zwar auch Kolonieen, jedoch spärlicher als die zwischen ihr und dem oberen, steril gebliebenen, Abschnitt gelegene Schicht (s. Fig. 1).

Der optimale Sauerstoffgehalt liegt sonach etwa 7—15 mm unterhalb der Oberfläche des Nährbodens; durch das üppige Gedeihen des Bacillus in dieser Schicht wird sozusagen ein Diaphragma gebildet, unterhalb dessen der Bacillus nur spärlicher fortkommt, oberhalb dessen er aber überhaupt nicht zu gedeihen vermag.

Bei spärlicher Besäung des Agars können die Kolonieen in der optimalen Schicht die Größe eines Mohn-, selten eines Hirsekornes ererreichen.

Die Stichkultur in hohem Zuckeragar unterscheidet sich hingegen in nichts von Stichkulturen anaërober Bakterien; der oberste, etwa 1 cm hohe Teil des Stiches bleibt steril, nach unten entsteht ein gleichmäßig dicker Streifen ohne Seitenfortsätze. Zuweilen aber sah ich nach längerem Fortzüchten des Bacillus in solchen Stichkulturen das Wachstum bis an die Oberfläche reichen, ja sogar an der freien Fläche war eine Vermehrung der Keime erkennbar.

Auf ganz ähnliche Weise isolierte ich denselben Bacillus aus dem Sekrete einer zweiten Kuh; es wurde 14 Tage nach dem Verwerfen gesammelt und war nicht, wie das erste Sekret, dünnflüssig, sondern dick und zähe, eitrigem Sputum ähnlich.

Nach Bang soll die Züchtung dieses Mikroben Nocard deshalb nicht gelungen sein, weil dieser sich keines geeigneten, namentlich keines mit Blutserum gemengten Nährbodens bediente. Dagegen beweisen meine Versuche, daß dieser Bacillus sowohl auf gewöhnlichem (mit Fleischbrühe, Pepton, Kochsalz bereiteten) Agar, wie auf Zuckeragar gut gedeiht. Ich versuchte auf den von Bang empfohlenen Stribolt'schen Nährböden (2 Teile Agargelatine und 1 Teil Blutserum), fand aber den Zuckerargar zu mindest ebenso geeignet.

Weitere Versuche waren darauf gerichtet, ob es nicht gelänge, den Bacillus auch bei Sauerstoffmangel oberflächlich zu kultvieren.

Bang sagt: „Wie zu erwarten war, gelingt es nicht, den Bacillus zu züchten, wenn man den Sauerstoff durch alkalische Pyrogallollösung entfernt“; er nahm zweifellos an, daß der Abortusbacillus nach Art der Anaëroben überhaupt nicht zu gedeihen vermag. Dem widerspricht jedoch schon das Wachstum in den tiefsten Schichten von hohem Agar, wo sonst nur Anaërobe fortkommen. Uebrigens ist der Sauerstoffmangel bei der Pyrogallolmethode zumeist wohl kein vollkommener.

Ich wollte mich von der Brauchbarkeit dieser Methode in diesem Falle überzeugen, und fand sie zur Züchtung dieses Bacillus recht geeignet, mehr noch als die Methode mit Oxygen.

Die Form, in der ich die Pyrogallolmethode anwandte, war die denkbar einfachste. Gewöhnlicher schräger Agar wurde besät, der Wattepfropf des Röhrchens wurde in eine ganz frische Lösung von Pyrogallol in 20-proz. Kalilauge getaucht, damit das Röhrchen verpfropft und sogleich mit Siegellack verklebt. Man hat dabei darauf zu achten, daß der Wattepfropf nicht zu viel Pyrogallollösung enthalte, da diese sonst auf den Agar rinnt, was man übrigens auch durch Umstürzung des Röhrchens vermeiden kann.

In solchen Röhrchen ist das Wachstum nach einem, spätestens nach 2 Tagen sichtbar, die einzelnen Kolonieen aber können nur mittels Lupe entnommen werden; Kolonieen mit einem Durchmesser von 0,5—1,0 mm entstehen überhaupt nur dann, wenn die Keime sehr zerstreut eingesät wurden. Nach 2—3 Tagen ist das Wachstum der Kultur zumeist schon beendet.

Die Kolonieen sind bei auffallendem Lichte glatt, glänzend, glattwandig, flach kegelförmig, d. h. im Centrum erhaben; bei durchfallendem Lichte sind sie homogen, bläulichweiß, fast jede Kolonie zeigt im Centrum ein weißes, mit einer Lupe eben noch sichtbares Pünktchen.

Aehnlich gedeiht dieser Bacillus in Röhrchen, wo die Luft durch Acetylen vertreten ist, ebenso wie typische Anaërobe.

Auch andere übliche Nährböden eignen sich zur Kultur des Abortusbacillus; er gedeiht z. B. auf erstarrtem Blutserum vom Kalbe, obgleich weniger gut als auf Agar. Im Kondensationswasser der Agar- und Serumkulturen bildet der Bacillus feine, weiße Krümchen, die auf den Boden sinken, ohne die Flüssigkeit zu trüben.

In Peptonbouillon findet bei unbehindertem Luftzutritt schwaches und sehr langsames Wachstum statt, wobei sich ein geringer weißer Bodensatz und bei schiefer Lage des Röhrchens an dessen Wand ein staubartiger Belag bildet; die Bouillon wird kaum getrübt.

In sterilisierter Kuhmilch, nach der oben angegebenen Pyrogallolmethode gezüchtet, beginnt nach 3—4 Tagen Gerinnung der Milch und nachher bald Trennung von Casein und Molke.

Ein Vergleich typischer Anaëroben mit dem Abortusbacillus ergiebt folgendes: Beide gedeihen nicht in Berührung mit der atmosphärischen Luft; während aber die Vegetation der Anaëroben desto lebhafter wird, je mehr ihnen der Sauerstoff entzogen wird, daweil entspricht dem optimalen Wachstum des Abortusbacillus ein gewisser Sauerstoffgehalt des Nährbodens, der nur etwas geringer ist, als jener der Luft; ein geringeres Maß des Sauerstoffes beeinträchtigt zwar das Gedeihen des Abortusbacillus, hemmt es aber nicht gänzlich. Am auffallendsten aber unterscheidet sich dieser Bacillus von Anaëroben dadurch, daß er auch

in fast reiner Sauerstoffatmosphäre zu wachsen vermag, was bisher von keinem Anaëroben bekannt ist.

Bei Zimmerwärme gelang es mir nicht, den Bacillus zu züchten.

Zur mikroskopischen Untersuchung eignen sich am besten weiße Flöckchen, die im Sekrete enthalten zu sein pflegen. Die Bacillen färben sich unschwer mit wässerigen Anilinfarbstoffen; ich bediente mich



Fig. 1.

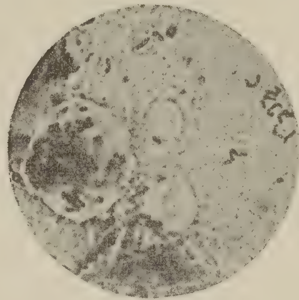


Fig. 2.

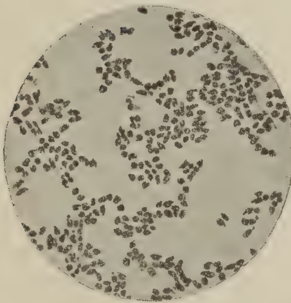


Fig. 3.

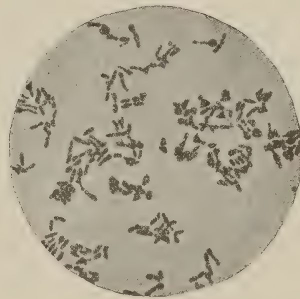


Fig. 4.

Fig. 1. Kultur des Abortusbacillus in Zuckerargar.
Fig. 2. Bacillen aus Uterinalsekret; 1 : 1070.
Fig. 3. Bacillen aus einer 2-tägigen Zuckeragarkultur mit intensiv gefärbten Schollen; 1 : 1000.
Fig. 4. Bacillen aus einer 10-tägigen Zuckeragarkultur (verzweigte Formen); 1 : 1000.
Sämtliche Präparate waren mit Karbolfuchsin gefärbt.

zumeist einer ganz kurzen Karbolfuchsinfärbung und Abwaschung mit Wasser.

In solchen Präparaten zeigt sich der Abortusbacillus als ein sehr feines kurzes Stäbchen, das den Schweinerotlaufbacillus an Dicke kaum übertrifft; nicht selten hängen 2—4 Bacillen an ihren Enden zusammen und bilden ein kurzes Kettchen. Bei genauer Untersuchung mit starken Systemen läßt sich oft erkennen, daß die längeren und zuweilen ge-

krümmten Formen eigentlich kein Verband von mehreren Individuen, sondern lange Stäbchen sind, die ungleichmäßig gefärbt sind, in denen tiefrote Teile durch blaßgefärbte Absätze getrennt sind. Die Bacillen sind überall in großer Zahl zerstreut, mit Vorliebe aber bilden sie kleinere und größere, oft wolkenartige dichte Häufchen, deren Zusammensetzung aus kleinen Stäbchen nur an den Rändern zu erkennen ist. Eiter- und Epithelialzellen enthalten oft Bacillen, sind zuweilen mit ihnen vollgepfropft (s. Fig. 2).

Kulturen entnommen und 1—2 Minuten mit Karbolfuchsin gefärbt, erscheinen die Bacillen etwas dicker und mannigfaltiger gestaltet, als aus dem Sekrete stammende; man findet da ganz kurze, fast coccusförmige, dünne und dickere, an den Enden gequollene Zellen. Auch hier ist die ungleichmäßige Färbung auffallend, die sich darin äußert, daß kurze Formen nur in der Mitte gefärbt sind, bezw. einen gefärbten Kern zu enthalten scheinen; dieser dunkle Kern liegt entweder inmitten des Bakterienleibes oder an einem Ende desselben, die übrigen Teile des Bacillus aber (d. h. ein oder beide Pole) sind oft zugespitzt, wodurch dieser die Form eines Hafer- oder Gerstenkornes oder eines Tropfens gewinnt. Längere Formen sind selten ihrer ganzen Länge nach gefärbt. sondern sie enthalten zwei, selten mehr, dunkle Körper, während die Zwischenteile und Enden kaum gefärbt sind. Zuweilen berühren sich zwei tropfenförmige Zellen mit ihrer stumpfen Basis, wodurch dem Diplococcus lanceolatus ähnliche Formen entstehen (s. Fig. 3). Die mit Karbolfuchsin dunkelgefärbten Schollen werden durch 5-proz. Schwefelsäure entfärbt; alkalische oder karbolsäurehaltige Lösung von Methylenblau färbt sie ebenfalls dunkler als das übrige Plasma der Bacillen.

In älteren Kulturen quellen einzelne Bacillen teilweise oder ganz auf, wodurch sehr verschiedene Formen (Spindel, Trommelschläger, Kaulquappe, Keil etc.) entstehen.

Nicht selten, zumal in älteren Kulturen, habe ich Verästelung mancher Bacillen gesehen; die Verästelung ist entweder eine gabelförmige, oder es besitzt ein Bacillus nach rechts und links einige kürzere oder längere Auswüchse und ähnelt dadurch einem Geweih (s. Fig. 4).

Je nach Alter und anderen unbekannten Ursachen können sich verschiedene Kulturen sowohl hinsichtlich der Verästelung, wie jener chromophilen Schollen in den Bacillenleibern nicht unwesentlich verschieden verhalten.

Nach der Gram- nnd Gram-Weigert'schen Methode ist dieser Bacillus nicht färbbar.

Aus dieser Beschreibung, gleichwohl aus den beiliegenden Figuren ist ersichtlich, daß der Bacillus des Verwerfens in jene Bakteriengruppe gehört, die als Korynebakterien bezeichnet werden; er kann sonach mit Recht als „Corynebacterium abortus endemici (s. infectiosi)“ bezeichnet werden. Er ist einer der kleinsten der bisher bekannten Repräsentanten dieser Gruppe.

So wie andere Korynebakterien, so bildet auch dieser Bacillus keine Sporen, infolgedessen seine Widerstandsfähigkeit eine geringe ist; seine Lebensfähigkeit kann aber in Kulturen eine sehr verschiedene sein. Kulturen in hohem Zuckeragar sind in 10—15 Tagen zumeist schon abgestorben; nur ausnahmsweise überimpfte ich noch eine 33-tägige Kultur mit Erfolg. Dagegen fand ich Flächenkulturen (mit Pyrogallol oder Acetylen angelegte) noch über 70 Tagen lebensfähig.

In Zuckeragar gewachsene und mit sterilem Wasser aufgeschwemmte

Bacillen lebten im Wasserbade bei 50° C über eine halbe Stunde, bei 55° C aber starben sie binnen 3 Minuten ab.

In einer Quecksilbersublimatlösung von 0,05 Proz. waren die Bacillen nach 15 Sekunden, in einer 1-proz. Karbollösung nach 1 Minute, in 2-proz. Essigsäure nach 2 Minuten, in 1-proz. Essigsäure in 10 Minuten bereits abgetötet.

Es wäre aber gewiß unzulässig, wenn man aus der geringen Widerstandsfähigkeit der Reinkulturen auf eine gleiche Hinfälligkeit des in der Natur zerstreuten Virus schließen wollte; mit einer solchen Annahme würde wenigstens die Erfahrung nicht stimmen, daß das infektiöse Verwerfen von selbst, ohne nachweisbare Einschleppung des Krankheitsstoffes, in Rinderbeständen auftauchen kann. Diese Erfahrung läßt sich dadurch erklären, daß die Abortusbacillen sich entweder in der freien Natur vorfinden, oder daß sie in gewissen Tieren als harmlose Parasiten leben und ihre Virulenz erst unter gewissen Umständen erlangen können.

Allerdings berechtigt die geringe Widerstandsfähigkeit dieser Bacillen zu der Annahme, daß eine Desinfektion von verseuchten Stallungen ohne Schwierigkeiten möglich ist. Wenn aber diese Seuche erfahrungsgemäß oft trotz strenger Desinfektion nicht zum Erlöschen oder Stillstehen gebracht werden kann, so folgt hieraus, daß die wesentliche Quelle der Ansteckung im virulenten Sekret der kranken Tiere zu suchen ist. Der unbedeutenden Resistenz der Krankheitskeime ist es zu verdanken, daß die Krankheit durch fortgesetzte Irrigationen mit schwachen Antisepticis gänzlich geheilt werden kann.

Zur Erprobung der Pathogenität dieser Bacillen hatte Prof. Dr. Marek die Gefälligkeit, zwei Kühen von vorgeschrittener Trächtigkeit Reinkulturen per vaginam und in die Blutbahn zu verabreichen; bei keiner der beiden Kühe aber erfolgte Abortus oder Erkrankung der Uterinalschleimhaut. Den positiven Versuchen von Bang gegenüber kann ich diesen negativen Versuchsresultaten keine Bedeutung zuschreiben und bin geneigt, sie daraus zu erklären, daß die Trächtigkeit der Versuchstiere bereits weit vorgeschritten war, und daß die Kulturen bereits wiederholt auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet wurden.

Mit Wasser aufgeschwemmte Kulturen wurden grauen Mäusen, Meerschweinchen, Kaninchen unter die Haut gespritzt; alle Tiere aber blieben gesund, und selbst an der Injektionsstelle zeigte sich keine Reaktion. Ebensowenig erkrankte ein intraperitoneal geimpftes Meerschweinchen und ein in die Blutbahn geimpftes Kaninchen.

Ausgehend von der Annahme, daß die Vorliebe der Abortusbacillen für die embryonalen Häute sich auch bei kleinen Tieren äußern werde, brachte ich zwei trächtigen Meerschweinchen und einem trächtigen Kaninchen frische Kulturen in die Vagina; bei allen verlief die Trächtigkeit ganz normal, und alle blieben gesund.

Die negativen Ergebnisse der subkutanen, intraperitonealen und intravenösen Impfungen an kleinen Tieren sind um so weniger überraschend, da ja der Abortusbacillus der Regel nach seine pathogene Wirkung erst im schwangeren Uterus dadurch entfaltet, daß er an Stelle der Kotyledonen, zwischen Uterus und den embryonalen Häuten, ein serös- oder eitrig-fibrinöses Exsudat hervorruft, infolgedessen Loslösung der Häute und Abortus erfolgt, ohne daß die Bacillen den Organismus von Mutter und Embryo eigentlich infizierten.

Im nichtträchtigen Uterus lebt der Bacillus als ein ungefährlicher

Parasit, eine unbedeutende Endometritis unterhaltend; in dieser Hinsicht besteht zwischen ihm und dem Gonococcus des Menschen manche Aehnlichkeit, denn auch dieser unterhält im Uterus (auch Tuben, Urethra etc.) langwierige Katarrhe der Schleimhaut, ohne sich im Organismus zu verbreiten.

Oft könnte es vielleicht von Nutzen sein, an Kühen, nach deren Isolierung und Behandlung und vor Zurückstellung unter die gesunden Tiere, die vollkommene Genesung durch Suchen der im Uterinalsekrete mikroskopisch unschwer nachweisbaren Abortusbacillen sicherzustellen.

Budapest, im Oktober 1902.

---



# Experimentelle Untersuchungen über Bakterienantagonismus. I.

[Aus dem hygienischen Institute der k. k. Universität in Innsbruck.]

Von Prof. **A. Lode.**

Mit 8 Figuren.

Im Verlaufe eines bakteriologischen Kurses im heurigen Wintersemester wurde der auffällige Befund erhoben, daß eine dicht besäte Gelatineplatte des Microc. tetragenus an einer nahezu kreisförmigen Stelle frei von Vegetationen des vorgenannten Mikroorganismus geblieben war; die Mitte dieser kahlen Stelle zeigte eine kleine zarte Kulturmasse, durch welche offenbar die Wachstumshemmung bedingt war. Wir hatten also einen zweifellosen Fall eines Bakterienantagonismus vor uns, der an sich nichts besonders Seltenes, doch durch seine auffallend charakteristische Ausbildung schon zur Gewinnung eines Demonstrationsmateriales näherer Betrachtung wert schien.

Nachdem es uns gelungen war, für die Gelatineplatte und den Micrococcus tetragenus die Konstanz der Hemmung festzustellen, wurden die Versuche einerseits bei Verwendung verschiedener Temperaturen und verschiedener Nährböden, andererseits mit anderen Mikroorganismen fortgesetzt.

Es zeigte sich, daß die Hemmung für den Microc. tetragenus bei Verwendung von leichtalkalischem Fleischwasserpeptonagar bei allen Temperaturen, bei denen der Microc. tetragenus wächst, fast gleich deutlich in Erscheinung trat. Am intensivsten tritt die Hemmung in Erscheinung, wenn der Antagonist, wie wir der Kürze halber den hemmenden Mikroorganismus nennen wollen, in Form von Impfstrichen auf die dicht besäte Platte, und zwar möglichst rasch nach dem Gusse der Platte, aufgetragen wird. Vergehen mehrere Stunden zwischen dem Ausgießen der Platte und der Nachimpfung mit dem Antagonisten, so versagt dessen Wirkung vollständig oder ist nur angedeutet, selbst dann, wenn die gegossene Platte bei niedrigen Temperaturen (etwa 10° C) aufbewahrt wird. Geringfügig, ja selbst negativ, wird die Wirkung auch bei zu grosser Aussaat des Tetragenus. Im ersten Falle setzt offenbar die beginnende Vermehrung, im zweiten Falle das Uebergewicht der Mikrobien der hemmenden Wirkung eine unüberwindliche Schranke.

Weitere Versuche belehrten uns, daß auch die Auswahl der Nährböden gleichgiltig ist, insofern nur der Antagonist und der Tetragenus

ihnen zusagende Vegetationsbedingungen vorfinden. Im Brutschranke (37° C) und bei 20° C trat die Hemmung auf Rinderblutserumagar (1 : 2), auf Hydrocelenagar (1 : 2), sowie auf bei 70° erstarrtem Rinderblutserum, auf welches der Tetragenus mittels Pinsel möglichst gleichförmig aufgetragen worden war, deutlich in Erscheinung.

Von anderen Mikroorganismen wurden auf gewöhnlicher Nährgelatine und Nähragar durch den Antagonistenstrich stark gehemmt der Anthraxbacillus, der Staphylococcus pyogenes aureus, der Hühnercholerabacillus, weniger stark der Typhusbacillus, der Bacillus des Mäusetyphus, der Choleravibrio, nicht gehemmt der Bacillus coli communis, der Friedländer'sche Bacillus u. a.

Die Größe der Hemmungskreise ist auch bei den Mikroorganismen, die am leichtesten beeinflußt werden, großen Schwankungen unterworfen, deren eine Ursache, das Mengenverhältnis der Aussaat, schon erwähnt wurde. Doch spielen zweifellos auch andere von uns nicht näher studierte Ursachen, wie Aenderungen des Nährbodens u. s. w., eine erhebliche Rolle. Die größten Hemmungskreise, die wir sahen, nähern sich besonders beim Hühnercholerabacillus etwa der halben gebräuchlichen Plattengröße. Auch beim Milzbrandbacillus waren Hemmungskreise von 2 und 3 cm Durchmesser nichts Seltenes. Als eine oft beobachtete Eigentümlichkeit der Hemmungskreise ist die mächtige Entwickelung der Randkolonieen hervorzuheben, die bei dichter Aussaat in Form eines massigen Ringes erscheinen, bei kleiner Aussaat im Gegensatz zu den kleinen Kolonieen der ungehemmten Plattenteile als breite plaqueartige Scheiben sich ausbilden. Möglicherweise verursacht einfach der größere Raum, der den Randkolonien zur Verfügung steht, deren stärkere Entfaltung, vielleicht aber handelt es sich hierbei um die bekannte Thatsache, daß Stoffe, welche in größeren Mengen toxisch wirken, in kleineren Mischungsverhältnissen die Lebensenergie der Mikroorganismen mächtig anzuregen imstande sind, wie ja selbst die besten Nährstoffe, wie Pepton, in konzentrierteren Lösungen Giften vergleichbar das Wachstum aufzuheben vermögen[1]).

Der Antagonist stellt sich mikroskopisch als ein mächtiger Coccus dar, der meist in Form von Diplokokken mit scharf gezeichneter Teilungsebene auftritt. Im Aussehen an den Gonococcus erinnernd, übertrifft er diesen an Größe um das 5—10-fache. Kettenverbände haben wir niemals, auch bei Züchtung in Bouillon, bemerkt. Er ist leicht mit den basischen Anilinfarben färbbar und entfärbt sich nach der Gram'schen Methode nicht. Seine Kulturen, die auf den gebräuchlichen Nährböden leicht gelingen, zeichnen sich durch Zartheit aus. Das Wachstum erfolgt, wie schon oben angedeutet, sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei den Wärmegraden des Säugetierorganismus sehr gut, doch entsteht auch unter den günstigsten Vegetationsbedingungen nur eine zarte weiße Auflagerung, die am besten mit den Vegetationen des Streptococcus pyogenes verglichen werden kann. Im Stiche erfolgt der ganzen Stichlänge nach Wachstum, an der Oberfläche bildet sich eine stecknadelkopfgroße zarte Auflagerung. Gelatine wird nicht verflüssigt. Im Stiche in Zuckeragar tritt keine Gasblasenbildung auf. Lackmusbouillon wird nicht verfärbt, auch zeigen mit neutraler Lackmustinktur versetzte Gelatine- und Agarplatten in der Umgebung der gut ausgebildeten Kulturen keine

---

1) Vergl. Kappel, Analyse der Massenkulturen einiger Spaltpilze und der Soorhefe. Inaug.-Diss. Leipzig.

Farbenveränderung. Präcipitierter kohlensaurer Kalk erfährt in der Umgebung der Kolonieen keine Lösung.

In einer durch alkalische Pyrogallussäurelösung sauerstofffrei gemachten Atmosphäre gedeiht der Antagonist nur kümmerlich, doch scheint sein Sauerstoffbedürfnis nicht sonderlich groß zu sein, indem im Agarstiche auch an den tiefsten Stellen noch reichliches Wachstum sich zeigt.

### Die antagonistische Wirkung filtrierter Stoffwechselprodukte.

Eine weitere Frage war die, ob in beimpften Nährlösungen auch nach der Entfernung der Kokken Hemmungserscheinungen auf empfindliche Mikroben auslösbar wären.

Es wurden Bouillonkulturen verschiedenen Alkalescenzgrades mit dem Antagonisten besät und teils bei 37°, teils bei 20° C wachsen gelassen.

Die Bouillon befand sich in Erlenmeyer'schen Kölbchen von ca. 100 ccm in höherer Schicht. Die Trennung der Bakterienleiber von der Kulturflüssigkeit erfolgte mittels Berkefeld-Filtern, welche auf ihre Dichtigkeit kontrolliert worden waren.

Die erste Filtration folgte 48 Stunden nach der Aussaat, nachdem bereits ein reichliches Wachstum durch die Trübung der Bouillon sich bemerkbar machte. In der Folge wurden dann in 2—3-tägigen Intervallen neuerdings Filtrate gewonnen und dies bis zu einem Alter der Kulturen von etwa 3 Wochen ausgedehnt. Die Wirksamkeit der Filtrate wurde geprüft, indem auf dicht besäte Platten (Agar oder Gelatine) mittels steriler Pipetten 1—3 Tropfen auf einzelne Stellen der Platten gebracht wurden.

Mit den ersten Bouillonserien wurde auch bei der längsten Wachstumsdauer kein Hemmungserfolg erzielt, so daß wir schon an die Mitwirkung des lebenden und wachsenden Mikroorganismus glaubten. Erst in der Folge brachte eine veränderte Versuchsanordnung den gewünschten Erfolg.

Folgende Erfahrung führte zur geänderten Methode:

Wir hatten die Boabachtung in der Zwischenzeit gemacht, daß, wenn in Gelatine oder Agar reichlich durch Schütteln empfindliche Mikroben verteilt, der Nährboden in der Eprouvette gerade erstarrt und nachher durch einen bis nahe zum Boden der Eprouvette geführten Stich mit dem Antagonisten beimpft wurde, nur im obersten Teile Wachstumhemmung aufgetreten war, obwohl der antagonistische Coccus entlang dem ganzen Impfstich schön zur Entwickelung gekommen war. Aehnlich wie die meisten Mikroorganismen ihr peptisches oder tryptisches Enzym reichlicher bei Luftzutritt ausscheiden, schien auch die Bildung des Hemmungsstoffes an die Anwesenheit von Luft gebunden zu sein.

Die analoge Erscheinung beobachtet man auch, wenn in tieferen Petri-Schalen eine größere Menge besäten Agars (30—40 ccm) ausgegossen wird und hierauf Striche des Antagonisten aufgetragen werden. Die Hemmungskreise nehmen gegen den Schalengrund an Größe ab, und es bilden sich kraterförmige Hemmungsformen aus.

Noch schlagender gelang es den Einfluß der atmosphärischen Luft Luft zu zeigen, indem kleine Agarschälchen mit Staphylococcus aureus besät und mit Strichen des Antagonisten versehen, im luftleer gemachten Exsikkator bei gutem Wachstum keine Hemmungskreise bildeten.

Damit war die wichtige Thatsache festgestellt, daß die Bildung des Hemmungskörpers an die Anwesenheit von atmosphärischer Luft geknüpft ist. Hierbei können zwei Momente erwogen werden: Entweder frödert der Luftzutritt die Wachstumintensität, oder der Hemmungskörper bildet sich nur unter dem Einflusse eines der Bestandteile der atmosphärischen Luft.

Wir kommen auf die Erörterung dieser beiden möglichen Fälle unten zurück.

Für unsere Bouillonkulturen wurde diese Erfahrung in der Weise verwertet, daß wir in sehr großen, etwa 2 l Flüssigkeit fassenden Erlenmeyer-Kolben nur wenig (100 ccm) leicht alkalische Peptonbouillon einbrachten, so daß die Höhe der Nährlösung kaum mehr als 1 cm betrug. Ferner wurde die bei 37° C weilende, mit dem Antagonisten beimpfte Bouillon 1—2-stündig, nachts 2—3mal kräftig geschüttelt, bis reichliche Schaumbildung eintrat. Schon die 2 Tage alte Kulturflüssigkeit brachte bei dieser Behandlung einen vollen Erfolg. Dieses Schütteln, das übrigens zweiffellos durch Lufteinleitung ersetzt werden könnte, erwies sich, wie ein Kontrollversuch mit gleichviel Flüssigkeit im großen Kolben lehrte, als notwendig.

Die Berkefeld-Filtrate der auf die geschilderte Weise gewonnenen Kulturflüssigkeit überraschten nicht nur quantitativ durch ihren Hemmungserfolg, indem 2—3 Tropfen auf die Platte gebracht, die Entwickelung der Keime der Hühnercholera, des Tetragenus, des Milzbrandes und des Staphylococcus aureus in mächtigem Umkreise verhinderten, sondern auch qualitativ, indem nunmehr Mikroorganismen eine Wachstumbehinderung erfuhren, die von den Stichen des Antagonisten wenig oder gar nicht beeinflußt worden waren. Das Filtrat erwies sich nunmehr als hochgradig hemmend für den Choleravibrio, den Typhusbacillus, das Bacterium coli commune u. a.

Die früher angenommene spezifische Wirksamkeit der antagonistischen Substanz mußte fallen gelassen werden.

Ist einmal die wirksame Substanz gebildet, so bedarf sie zu ihrer Wirksamkeit nicht mehr jenes Luftbestandteiles, der zu ihrer Entstehung vermutlich am notwendigsten ist, des Sauerstoffes. — Man kann dies leicht zeigen, indem man auf gerade erstarrte Agar- oder Gelatineschüttelkulturen einen Tropfen des wirksamen Filtrates aufträufelt. Züchtet man solche Kulturen anaërob im Buchner-Röhrchen, so bildet sich analog dem aërob gezüchteten eine Wachstumhemmung im obersten Teile des Röhrchens aus, an welche sich eine ringförmige Zone üppigster Kultur anschließt (vergl. oben).

Die zunächst liegende Frage war die, ob die Wirksamkeit der Stoffwechselprodukte des Antagonisten nicht etwa einer Säure- oder Alkalibildung zuzuschreiben sei. Sirotinin[1]) schließt aus seinen Erfahrungen, daß in den Fällen von Bakterienantagonismus, in welchem es sich nicht um Erschöpfung handelt, die Reaktionsveränderung, insbesondere kohlensaures Ammon, als Ursache der Hemmung anzusehen sei.

In unserem Falle zeigt das wirksame Filtrat entweder keine Reaktionsveränderung im Vergleiche mit jener Bouillon, welche zur Impfung verwendet worden war, oder es zeigt das Filtrat eine nur durch starke Verdünnung des Indikators nachzuweisende Säuerung. Daß diese übrigens nichts mit dem Antagonismus zu thun haben kann, läßt sich dadurch

1) Ueber die entwickelungshemmenden Stoffwechselprodukte der Bakterien und die sogenannte Retentionshypothese. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. IV. p. 262.)

beweisen, daß die Hemmungssubstanz auch in Bouillon erhalten wird, welcher von vornherein zur Bindung etwaiger Säure präcipitierter kohlensaurer Kalk zugesetzt worden ist.

### Zymasen des Antagonisten.

Eine weitere Möglichkeit war es, anzunehmen, daß die Ausscheidung eines enzymartigen Körpers den Antagonismus bedinge.

Wir hatten anläßlich anderer Versuche die Erfahrung gemacht, daß der Coccus beträchtliche hämolytische Fähigkeiten nachweisen läßt, wenn man ihn auf Agarplatten bringt, in welchen ein Tropfen defibriniertes Blut gleichmäßig verteilt worden war.

Diese Methode, welche sich, falls man an Stelle des Blutes gefälltes Eiweiß, Fett, Stärke etc. im Agar verteilt, zum Nachweis der verschiedenartigsten Enzyme eignet, wurde erst unlängst von Eijkman[1]) geprüft und empfohlen. Es bildet sich bei Vorhandensein des betreffenden Enzyms durch Lösung der suspendierten Substanz ein heller Ring, dessen Größe ein ungefähres Urteil über die Intensität der Enzymausscheidung gestattet.

Wir haben mit verschiedenen Blutarten solche Versuche angestellt und gefunden, daß nach dieser Methode Kaninchen- und Meerschweinchenblut in weitem Umkreise der kleinen Kolonie gelöst wird; Rattenblut gab kleinere Aufhellungsringe, Rinderblut inkonstante Resultate. Die Aufhellungszonen waren erst nach 2-tägigem Verweilen der Platten im Brutofen deutlich ausgebildet.

Eine eigentümliche Erscheinung bot defibriniertes, im Agar verteiltes Hühnerblut; bei diesem kommt es entweder gar nicht oder erst nach etwa 3 Tagen zur Bildung eines klaren Ringes, dagegen schon nach 12—24 Stunden zu einer mehr oder minder mächtigen, scharf umschriebenen Verfärbung des Blutfarbstoffes. Es erscheinen auf dem durch die Blutkörperchen gefärbten roten Agar weiße, im auffallenden Lichte grünliche Kreise, welche getrübt bleiben und unter dem Mikroskope die scheinbar unversehrten aber entfärbten Blutkörperchen des Huhnes erkennen lassen. Häufig begrenzt den weißen Hof ein braungrüner Ring, und man hat den Eindruck, als ob der Blutfarbstoff der entfernten Zone sich peripher geflüchtet und zu dem erwähnten Ringe verdichtet hätte.

Es handelt sich also nur um eine Einwirkung auf den Blutfarbstoff und nicht um Hämolyse, wenn wir den letzteren Begriff als eine Zerstörung der Blutkörperchen auffassen wollen.

Möglicherweise findet eine Entfärbung des Blutfarbstoffes und die Bildung einer Leukoverbindung statt. Wir nannten die Erscheinung im Gegensatze zur Hämolyse Hämoglobinolyse. Hämolyse und Hämoglobinolyse sind zwei völlig differente Erscheinungen, können aber auch nebeneinander beobachtet werden. So bildet der Antagonist Rattenblutkörperchen gegenüber zwei konzentrische Ringe, von denen der äußere seiner hämoglobinolytischen, der innere der hämolytischen Fähigkeit zukommt.

Daß sich wenigstens die hämolytische Fähigkeit des Antagonisten nicht mit seiner antagonistischen deckt, konnte auf zweierlei Weise bewiesen werden:

1) Konnte bei Versuchen mit antagonistisch wirksamen Filtraten keine Hämolyse im Reagenzglase gefunden werden.

---

1) Ueber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. No. 22.)

Die zu diesem Nachweise verwendete Methode ist im wesentlichen die von Neisser ausgebildete. Kleine Mengen des durch bakteriendichte Filter steril gemachten Filtrates werden mit entsprechenden Mengen isotonischer Kochsalzlösung vermischt, z. B.:

1 ccm Filtrat + 1 ccm 0,85-proz. ClNa
0,5 „ „ + 1,5 „ 0,85 „ „
0,1 „ „ + 1,9 „ 0,85 „ „

Als Kontrolle dient einerseits die gleiche Mischung des durch Erhitzen (1 Std. auf 60° C) inaktiv gemachten Filtrates, andererseits die zur Züchtung verwendete Bouillon. Der letztere Kontrollversuch ist keinesfalls, wie uns einschlägige Versuche lehrten, zu unterlassen, da es Bouillonserien gab, z. B. eine aus nicht ganz frischem Fleische hergestellte, welche, selbst in kleinen Mengen zur isotonischen Kochsalzlösung hinzugefügt, Hämolyse erzeugte.

Zu den Filtratmischungen wird hierauf je 1 Tropfen steril aus der Carotis aufgefangenen frischen Blutes gegeben, das Probierröhrchen geschüttelt, 2 Stunden bei 37° C und etwa 18—20 Stunden im Eisschranke bewahrt.

In allen Fällen, wir mochten jüngere oder ältere Filtrate hierzu verwenden, trat bei Meerschweinchen-, Rinder-, Kaninchen- und Rattenblut keine Hämolyse ein.

Dem Hühnerblute gegenüber trat wieder eine eigentümliche Reaktion auf. Das Blut verfärbte sich sofort ins Grünliche und wurde nach mehrstündigem Stehen völlig mißfarbig. Später klärte sich die über dem schmutzig grünen Blutniederschlag stehende Bouillon; gelöster Farbstoff tritt in der Bouillon nicht auf.

2) Konnte gezeigt werden, daß der auf der Platte hämolytisch wirkende Anteil der Stoffwechselprodukte Dialysiermembranen gegenüber undurchgängig ist, während der antagonistisch wirkende Körper leicht dialysierbar ist.

Damit war erwiesen, daß das antagonistische Prinzip kein Enzym sein kann, und es mag nur zur Charakterisierung unseres Micrococcus angeführt werden, daß er außer dem hämolytischen auch noch ein amylolytisches, hingegen kein casein- und albuminlösendes Enzym besitzt. Das amylolytische Enzym war leicht nachweisbar, indem die Agarplatten, denen dünne Stärkelösung bis zur leichten Trübung zugesetzt worden war, helle, durch Jod-Jodkalilösung sich nicht mehr bläuende Ringe um die Kokkenkolonieen erkennen ließen.

Hingegen konnte der Nachweis eines bakteriolytischen Enzyms nicht erbracht werden, wenn bei 70° C durch 1 Stunde erhitzte Bakterien, darunter auch die leicht beeinflußbaren Mikroben der Hühnercholera, in Agar bis zur leichten Trübung verteilt wurden und hierauf Antagonisten-Stiche oder -Striche auf die Nähroberfläche gebracht wurden. Auch wirksame Filtrate mit empfindlichen Mikroben im hängenden Tropfen zusammengebracht, zeigten nach vielstündiger Einwirkung sich morphologisch unversehrt und unagglutiniert.

Die antagonistisch wirksame Substanz ist dialysierbar.

Wir dachten, wie oben erwähnt, anfangs daran, daß eine Zymase die Wachstumhemmung hervorrufe. Wir dachten an eine der von Emmerich und Löw[1]) beschriebenen Pyocyanase ähnliche Substanz,

1) Durch bakteriolytische Enzyme erworbene Immunität. (Zeitschr. für Hygiene. Bd. XXXI. p. 1.)

zu welcher Annahme auch die unten zu erwähnende schwere Inaktivierbarkeit unserer wirksamen Filtrate beitrug. Wir vermuteten ein hetoroformes Enzym im Sinne der erwähnten Autoren. Wir waren daher sehr erstaunt, als wir die Erfahrung machten, daß die wirksame Komponente leicht Dialysiermembranen passieren kann.

Es konnte dies leicht in folgender Weise gezeigt werden:

Man schneidet den größten Durchmesser einer Petri-Schale um etwa 2 cm überragende ca. 2,2 cm breite Streifen aus bestem Dialysierpergament, falzt diese der Länge nach entsprechend den punktierten Linien in Fig. 1, und legt sie nach entsprechender Adaptierung der Endstücke durch Einfalzen so in die Schale, daß die durch den Falz gebildeten Flächen miteinander einen Winkel von ca. 90° bilden. Die dem Schalenboden anliegende Fläche, ferner die Endstücke, die an den Schalenrand angelegt werden, bestreicht man mit dünner Hühnereiweißlösung, drückt mit dem Finger die Pergamentflächen an das Glas der Schale, fixiert allenfalls mit einer Stahlfeder auch die Enden an den Schalenrand und läßt für einige Minuten die auf diese Weise adaptierte Petri-Schale im strömenden Wasserdampf verweilen. Hierdurch wird das Eiweiß koaguliert und die Pergamentscheidewand, welche nunmehr den Schaleninhalt in zwei getrennte Hälften zerlegt, fixiert (Fig. 2). Macht man diese Operation sorgfältig und dichtet insbesondere die Eckflächen am Schalenrande durch Eiweiß, so gelingt es leicht, ein für Wasser absolut dichtes Septum zu erhalten. Die Prüfung auf Wasserdichte erfolgt, indem man eine Schalenhälfte mit Wasser teilweise füllt, und die Schale so neigt, daß die mit Wasser erfüllte Schalenhälfte höher zu liegen kommt. Bleibt die andere Schalenhälfte nach mehrstündigem

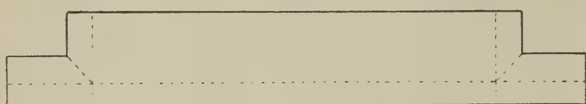


Fig. 1.

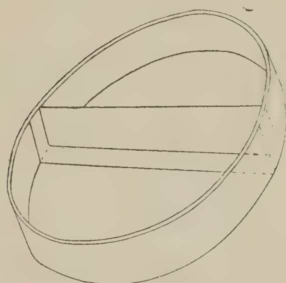


Fig. 2.



Fig. 3. Hemmungskreise, hervorgerufen durch den Microc. antag. auf einer dichten Gelatineplatte des Microc. tetragenus.

Verweilen trocken, so ist die adaptierte Petri-Schale für den Versuch brauchbar.

Impft man derartig adaptierte Schalen mit Agar, dem der Hemmung zugängliche Mikroorganismen zugesetzt worden sind, und macht man die Antagonistenstriche nur auf einer Schalenseite, jedoch in der Nähe

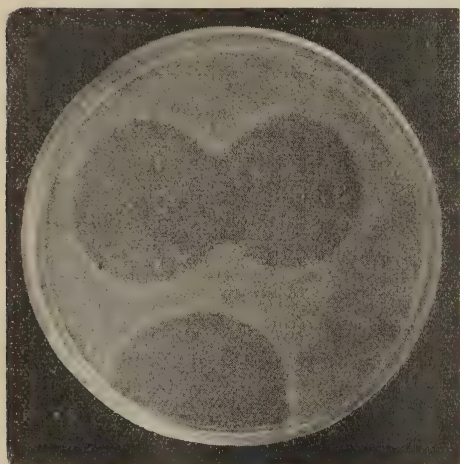


Fig. 4.



Fig. 5.

Fig. 4. Hemmungskreise, hervorgerufen auf einer dichten Agarplatte des Hühnercholerabacillus durch Berkefeld-Filtrat einer 2 Tage alten Bouillonkultur des Micr. antag.

Fig. 5. Uebergreifen der Hemmungskreise über das Pergamentseptum zur Darstellung der Dialysierbarkeit der antagonistischen Substanz (Micr. antag. und Micr. tetrag.).

Fig. 6. Wachstumhemmung des Staphyloc. pyog. aureus durch den Bacillus pyocyaneus. Die plaqueartigen Vegetationen gehören dem Bacillus des blauen Eiters an.



Fig. 6.

des Pergamentdiaphragmas, so sieht man konstant, daß die Hemmungskreise nicht vor der Dialysiermembran Halt machen, sondern in die andere Schalenhälfte hineinragen, daß also die antagonistische Substanz zu den krystalloiden und nicht zu den kolloiden Substanzen zuzuzählen ist.

Die Methode eignet sich sehr zum expeditiven Nachweis der

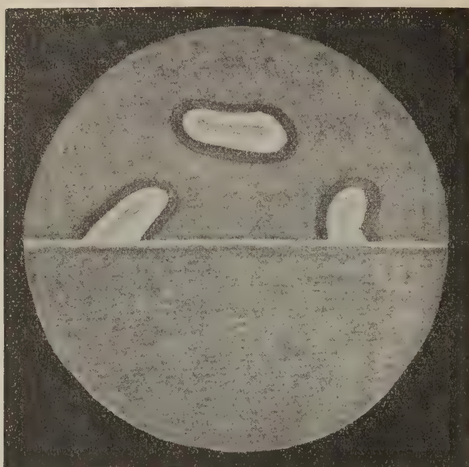


Fig. 7.

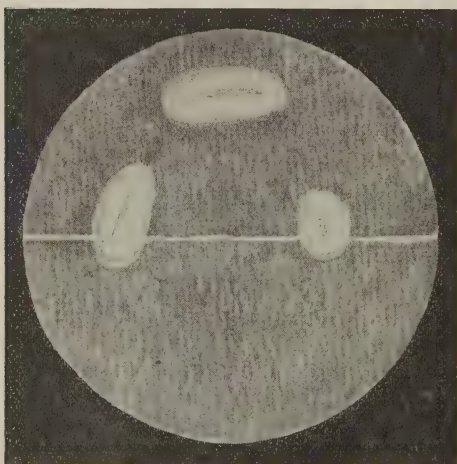


Fig. 8.

Dialysierbarkeit verschiedener Bakterienprodukte, insbesondere der Farbstoffe u. s. w.

Prüft man mit Hilfe solcher Platten auf Hämolyse, so sieht man, wie die Lösungskreise scharf durch das Pergament abgeschnitten werden.

Das hämolytische Enzym passiert also nicht die Membran, wohl aber unser antagonistischer Körper. Hingegen reichen bei Hühnerblut die Entfärbungskreise über das Diaphragma hinaus, wodurch die Verschiedenheit der hämolytischen und hämoglobinolytischen Komponente unserer Stoffwechselprodukte bewiesen wird.

Die Dialysierbarkeit der antagonistischen Substanz

Fig. 7. Hämolyse des Microc. antag. gegenüber Kaninchenblut. Die hämolytisch wirksame Substanz wird durch das (durch den weißen Strich angedeutete) Dialysierpergament nicht durchgelassen.

Fig. 8. Hämoglobinolysis der Micr. antag. gegenüber Hühnerblut. Im Gegensatze zum vorigen Bilde greift die Einwirkung auf die Blutkörperchen über die Dialysiermembran über. Während bei der Hämolyse eine Aufhellung des rotgefärbten Agargrundes entsteht, bilden sich hier weißliche bis grünliche trübe Höfe mit dunkelgrüner Randpartie.

konnte auch am wirksamen Filtrate erwiesen werden. Läßt man dieses in einem Dialysiercylinder in mehrfach gewechseltem Wasser stehen und versucht, Hemmungskreise auf Agarkulturen hervorzubringen, so ist dies nicht mehr möglich.

## Baktericide Wirkung und Inaktivierbarkeit.

Die antagonistische Substanz wirkt, wie zahlreiche Versuche zeigten, nicht nur entwickelungshemmend, sondern auch bakterientötend. Um hierbei einwandsfrei zu verfahren, ist folgende Versuchsanordnung von uns eingeschlagen worden.

Es wurden Aussaaten aus dichten Bakterienaufschwemmungen der empfindlichen Mikroben in gleiche Mengen Flüssigkeit übertragen: 1) von

wirksamen Filtraten, 2) von wirksamen, jedoch erhitzten Filtraten, 3) Aussaaten in gleich große Bouillonmengen.

Nach gemessenen Zeiten wurden Aussaaten auf Gelatineplatten gemacht und die entwickelten Kolonieen gezählt.

Die Aussaaten in Bouillon sollten dazu dienen, die zugesetzte Bakterienmenge, die allenfalls momentan durch die baktericide Substanz vermindert werden könnte festzustellen; das erhitzte Filtrat sollte uns Aufschluß geben, ob nach völliger Zerstörung der wirksamen Substanz noch genügend Nährstoffe vorhanden wären und ob nicht etwa die baktericide Wirkung eine Hungerwirkung sei.

Daß Veränderungen der entwickelungshemmenden Substanz durch die Erhitzung vor sich gehen, hatten uns schon die ersten Versuche gelehrt, welche allerdings mit nur wenig wirksamen Filtraten angestellt worden waren.

Zur völligen Beseitigung der Wirkung der Platte hatte damals die Zeit von $^1/_2$—1 Stunde und die Temperatur von 60° C ausgereicht, was uns in der damals gefaßten Meinung, daß ein Enzym vorliege, bestärkte. Mit hoch wirksamen, durch Schütteln gewonnenen Stoffwechselprodukten mußte Zeit und Temperatur wesentlich erhöht werden; wir besaßen ein Filtrat, daß bei Erhitzung im strömenden Wasserdampfe (ca. 97° C) noch nach 2 Stunden, nicht mehr aber nach 3 Stunden wirkte. Diese lange Inaktivierbarkeit läßt sich wieder schwer mit der landläufigen Vorstellung von den Enzymen vereinen.

Die Intensität der Wirkung illustrieren am besten die folgenden Versuche:

1) Weniger wirksames Filtrat. Die Inaktivierung wird durch Erhitzung des Filtrates über freiem Feuer durch 1 Stunde ausgeführt. Als Aussaatmaterial dient der Micrococcus tetragenus.

a) Kleinere Aussaat, d. i. 260 Keime pro Platte

| Filtrat | Aussaaten nach Stunden | | |
|---|---|---|---|
| | $^1/_2$ Std. | $4^1/_2$ Std. | 24 Std. |
| aktiv | α 130<br>β 90 | α 26<br>β 36 | α θ<br>β θ |
| inaktiv | 190 | 300 | ∞ |

b) Größere Aussaat, 1300 Keime pro Platte

| Filtrat | Aussaaten nach Stunden | | |
|---|---|---|---|
| | $^1/_2$ Std. | $4^1/_2$ Std. | 24 Std. |
| aktiv | α 850<br>β 680 | α 40<br>β 120 | α θ<br>β θ |
| inaktiv | 1600 | 4600 | ∞ |

2) Hochwirksames Filtrat. Dasselbe wird durch 1 bezw. 3 Stunden erhitzt.

a) Aussaatmaterial, 900 Keime des Hühnercholerabacillus pro Platte

| Filtrat | Aussaaten nach | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10 Min. | 30 Min. | 6 Std. | 24 Std. |
| aktiv | 815 | θ | θ | θ |
| 1 Std. im Dampftopfe erhitzt | 920 | 460 | 3 | θ |
| 3 Std. im Dampftopfe erhitzt | 910 | 1060 | ∞ | ∞ |

b) Aussaatmaterial, 860 Keime des Micrococcus tetragenus pro Platte.

| Filtrat | Aussaaten nach | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 10 Min. | 30 Min. | 6 Std. | 24 Std. |
| aktiv | 826 | 66 | θ | θ |
| 1 Std. im Dampftopfe erhitzt | 800 | 48 | 1 | θ |
| 3 Std. im Dampftopfe erhitzt | 1040 | 1236 | ∞ | ∞ |

Die baktericide Wirkung ist, wie ein Blick auf die Tabellen lehrt, nicht unbeträchtlich, wenn sie auch mit der Wirksamkeit der Pyocyanase nicht im entferntesten Schritt zu halten vermag.

Die Versuche, etwas über die Stellung der antagonistischen Körper im chemischen Systeme zu erfahren, haben bisher zu keinem positiven Ergebnis geführt; sie sind noch keineswegs abgeschlossen, so daß das wenige bisher Ermittelte nur zu ihrer oberflächlichen Charakterisierung angeführt sei.

Zunächst lag die Vermutung nahe, daß die Inaktivierung nichts anderes als eine Vertreibung einer flüchtigen Substanz sei. Zu dieser Vermutung trug auch die Tatsache bei, daß die wirksamen Filtrate, und nur diese mit dem Nesslerschen Reagens geprüft, Ammoniak nachweisen lassen. Es wurden also wirksame Filtrate auf dem kochenden Wasserbade und über freiem Feuer destilliert. Auch wenn die Destillation so vorsichtig geleitet wurde, daß die Erhitzung auf 3 Stunden ausgedehnt wurde, war im Destillat kein wirksamer Körper nachweisbar, obwohl der Destillationsrückstand sich als „inaktiviert“ erwies.

Nur dann gelang es, eine Spur des wirksamen Körpers im Destillate aufzufinden, wenn die Destillation im Vakuum und bei sehr niedrigen Temperaturen ausgeführt wurde. Auch da war die Wirkung nur auf die sensiblere Hühnercholera und nicht auf den Micrococcus tetragenus zu konstatieren. Der Vakuumdestillationsrückstand blieb auch zur Trockne eingedampft und, in sterilem Wasser aufgenommen, wirksam.

Dieses Verhalten, welches zahlreiche organische Körper zeigen, spricht dafür, daß eine Zersetzung des labilen Körpers durch länger dauernde Erhitzung zustande kommt.

Schüttelt man das Filtrat mit 96-proz. neutralem Alkohol, so geht die wirksame Substanz in den Alkohol über, der wässerige Rückstand, der zur Verjagung des Alkohols in flacher Schale bei etwa 50° auf dem Wasserbade erwärmt wird, ist unwirksam geworden.

Macht man eine analoge Operation mit Aether, so zeigt sich die ätherische Lösung unwirksam, während der Rückstand die antagonistische Substanz noch besitzt. Letztere ist also in Alkohol löslich, in Aether unlöslich.

In dieser Richtung sind unsere Versuche in den ersten Anfängen. Man kommt, wenn man die Plattenreaktion stets zur Kontrolle heranziehen will, langsam vorwärts, indem zugesetzte Reagentien stets neutralisiert bezw. beseitigt werden müssen, um nicht selbst eine Entwickelungshemmung und dadurch einen Fehlschluß herbeizuführen.

### Tierversuche.

Es lag nahe, festzustellen, ob man mittels der Stoffwechselprodukte nicht heilend oder vorbeugend auf den Ablauf einer Tierinfektion mit einem der sensiblen Mikroorganismen wirken könne, wozu der Umstand noch besonders einlud, daß weder der Mikroorganismus pathogen noch seine Stoffwechselprodukte toxisch wirkten.

Die bisher gemachten Tierversuche, die sich nur auf Mäuse und den Microc. tetragenus beziehen, waren entmutigend und völlig negativ. Es erfolgte der Tod annähernd zur gleichen Zeit, wenn lediglich der Microc. tetragenus eingeimpft wurde, oder wenn vor, nach oder mit der Impfung wirksames Filtrat oder lebende Antagonisten einverleibt worden waren. Daß jede Erkrankung ausblieb, wenn mehrstündige Gemische von Filtrat und Microc. tetragenus einverleibt wurden, ist selbstverständlich.

---

Ueber Bakterienantagonismus existiert bereits eine reiche Litteratur, welche teils über Versuche berichtet, die auf künstlichen Nährböden angestellt worden waren, teils Tierversuche enthält, bei denen ein günstiger Einfluß einer Infektion durch eine antagonistisch wirksame Bakterienart oder deren Stoffwechselprodukte hervorgerufen werden soll, z. B. Milzbrand durch Erysipel, Staphyl. aureus, Friedländer.

Mit Rücksicht auf unsere bisherigen negativen Tierergebnisse können wir diese freilich interessantere Litteratur unberücksichtigt lassen.

Auch auf eine Aufzählung der Arbeiten, welche Entwickelungshemmung auf Nährböden beschreiben, können wir um so eher verzichten, als Gottschlich in dem eben erschienenen Handbuche der Mikroorganismen von Kolle und Wassermann (Lief. 1, p. 120) eine genügend eingehende Litteratur übersichtlich im Kapitel Antagonismus und Symbiose in Mischkulturen gegeben hat.

Bezüglich der Erklärung der Erscheinung sind eine Anzahl Vermutungen ausgesprochen worden. Hierbei kann entweder ein Mangel an Nährmaterial in Frage kommen: Erschöpfungshypothese, oder es können Stoffe gebildet worden sein, welche die Entwickelung anderer Mikroben schädigen, oder es kann schließlich eine Ueberwucherung einer Art durch die andere stattfinden. Letztere spielt, wie uns eigene Versuche zeigten, bei der insbesondere von Olitzky studierten antagonistischen Wirkung der Bacillus fluorescens eine Rolle.

In unserem Falle handelt es sich bei der Zartheit der Antagonistenkolonieen sicher nicht um eine Ueberwuchernng und ebensowenig um eine Erschöpfung, da ja die besten Nährmedien durch

einen Tropfen Filtrates in weitem Umkreise zum Wachstum ungeeignet wurden.

Es können also nur Produkte des Stoffwechsels für den Antagonismus verantwortlich gemacht werden.

Die einfachste Annahme der Bildung saurer oder alkalischer Produkte wird durch die geringfügige, oft fehlende Reaktionsänderung widerlegt. Insbesondere verweisen wir auf den Versuch, in welchem bei Anwesenheit von reichlichem kohlensauren Kalke ein wirksames Filtrat erzielt wurde.

Sicher scheint ein labiler Körper gebildet zu werden, wie die durch Hitze gelungene Inaktivierbarkeit beweist. In dieser Hinsicht bietet die Litteratur ein Analogon in Versuchen von Frankland, welcher zeigte, daß Typhusbacillen im keimfrei filtrierten Themsewasser schon nach 9 Tagen abgestorben waren, während sie im dampfsterilen gleichen Wasser noch nach 32 Tagen nachweisbar waren.

Vermutlich ist ein Bestandteil des wirksamen Körpers die Ammoniumgruppe, wie aus dem positiven Ausfall der Nessler'schen Reaktion hervorgeht. Schwer verständlich bleibt es, daß sich dieses Reduktionsprodukt beim Schütteln, also bei Sauerstoffzutritt, bildet, während es bei ruhigem Stehen der Kultur auszubleiben scheint. Möglicherweise wirkt das Schütteln der Kulturflüssigkeit nur durch die durch Keimzählung festgestellte außerordentlich gesteigerte Vermehrung der Mikrobien und die mit dieser verbundenen intensiveren Produktion von Stoffwechselprodukten.

In Hinsicht auf eine nähere Charakterisierung des antagonistischen Körpers behalte ich mir weitere Versuche vor.

Ob man für die Praxis in irgend einer Richtung Vorteile von unserem Mikroorganismus erwarten kann, soll noch dahingestellt bleiben. Auf Heilversuche zu hoffen, scheint mir wenig aussichtsvoll, vielleicht kann er aber mit Rücksicht auf die verschiedene Empfänglichkeit der Mikroben für das Gift zur Trennung verschiedener Arten herangezogen werden. Vorversuche mit Mischkulturen haben bisher wenigstens die Möglichkeit einer solchen elektiven Wachstumbeeinflussung ergeben.

---



# A study of an hemolytic complement found in the serum of the rabbit.

[From the Laboratory of Hygiene, University of Pennsylvania.]

A preliminary report[1]).

By **J. Edwin Sweet,** A. M., M. D.
Thomas A. Scott Fellow in Hygiene (1901—1902), in the Laboratory of Hygiene of the University of Pennsylvania (Director A. C. Abbott, M. D.).

The rapidly growing literature upon the subject of hemolysis contains, so far as we have been able to determine, no report of a systematic study of the problem of the experimental increase of the hemolytic com-

1) Submitted for publication Nov. 1st, 1902.

plements. A few observations have pointed out the probable influence of certain processes upon the production of the complements [Ehrlich and Morgenroth, Metalnikoff[1])]; the experimental increase of an hemolytic complement was demonstrated by Nolf, and also by Müller, but no systematic study of the phenomenon was made.

A fact observed during the course of a series of experiments upon the influence of alcohol upon the animal organism, conducted by Dr. Abbott, Director of the Laboratory of Hygiene of the University of Pennsylvania, and Dr. Bergey, first assistant, that an increase of hemolytic complement occurs in the serum from rabbits suffering from a non-experimental seropurulent pleuritis, led us to take up this problem of the experimental increase of an hemolytic complement. The results led us to consider other phases of the problem of the hemolytic complements — especially that of the source of the hemolytic complements and the conditions of their existance in the normal animal body.

Our work has been limited exclusively to that hemolytic complement contained in the serum from rabbits which reactivates the amboceptor for bovine erythrocytes, produced in the serum of rabbits after successive injections of defibrinated bovine blood. The details followed in our experiments were identical with those generally adopted in hemolytic work. Parallel series of test-tubes, each tube containing 1,0 c. c. of a 5 % suspension of washed bovine erythrocytes in 0,85 % NaCl solution were prepared; control series, made by adding the sera in question alone, were in every case negative; to each tube of the parallel series was then added 0,05 c. c. of immune serum, heated to 55—56° C. for thirty minutes, from a rabbit immunized by intraperitoneal injections of fresh, defibrinated bovine blood; with these tubes were then mixed increasing quantities of the sera to be tested, the control being a series made with the serum from a normal rabbit. The only departure from the method usually adopted was that the sera were added in such dilutions that the point of beginning hemolysis could be determined, instead of the point where hemolysis is just complete. The series were left for two hours at 37° C., and then placed for twelve or eighteen hours at low temperature.

The substances which have been found to cause an increase in the serum of rabbits of the hemolytic complement of the amboceptor for bovine erythrocytes are the following: intravenous injections of the maximum non-fatal dose of virulent Staphylococcus pyogenes aureus; subcutaneous injections of pure, sterile oil of turpentine; and intrapleural injections of sterile aleuronat suspension. The results of our experiments along this line justify us in the following conclusion:

The hemolytic complement considered in our work can be experimentally increased by the injection of the substances mentioned; the greatest and most constant increase follows an intrapleural injection of sterile aleuronat suspension.

---

The logical sequence of this conclusion was the problem of the source of the hemolytic complement. The injection into the animal body of substances whose most apparent action is upon the leucocytic complex,

1) For references to the literature, see our complete article in the University of Pennsylvania Medical Bulletin, for December, 1902.

is followed by a readily demonstrable increase of the hemolytic complement of the amboceptor for bovine erythrocytes; is there, then, any connection between the leucocytic reaction and this increase of complement?

This problem has been the object of the work of several authors, among them v. Dungern, Schattenfroh, Gruber and Tarassévitch; our own experiments followed, in part, the methods used by these authors. The sterile pleural exudate produced by an injection of aleuronat, was treated by the congelation method of Buchner, either in toto, or the leucocytes were separated from the serous portion of the exudate by means of the centrifuge, and the sediment composed of leucocytes treated separately. Hemolytic series were made with these liquids, and compared with parallel series made with the serum from the same animal. An aleuronat exudate contains, if removed after twenty-four to forty-eight hours, a preponderance of polynuclear leucocytes; if left for three or four days, the mononuclears are more largely represented, making up from 40 % to 50 % of the entire number of leucocytes. The exudates used were obtained after forty-eight hours and also after four days, so that we were dealing, as strictly as is within the limits of the practicable, with both polynuclear and mononuclear exudates.

Our results obtained by the method briefly outlined point conclusively to the following:

1) The hemolytic complement of the amboceptor for bovine erythrocytes is not present in the exudate produced by an injection of sterile aleuronat suspension into the pleural cavity of rabbits, except in quantities so minute that the reactivating power — complement — content — of such exudate cannot be compared with the reactivating power of the serum of the same animal.

2) What little complement is present, is contained in the serous portion of the exudate, and is not contained in the leucocytes, whether polynuclear or mononuclear.

4) The complete breaking up of the leucocytes in such an exudate sets free no hemolytic complement — nor when the exudate is composed of over 40 % of mononuclear leucocytes.

If, then, the hemolytic complement is not contained in the leucocytes and set free after these leucocytes have been broken up by the process of coagulation, it must be normally present in the circulating plasma.

We have been able to support this proposition by the following method of experiment — an experiment used by Levaditi to prove that the bacteriolytic complements are not in a free state in the circulating blood-plasma. The aqueous humor was removed from the eyes of rabbits by means af a sterile hypodermic syringe, and as soon as the eyes had filled, this liquid of new formation was likewise withdrawn. Hemolytic series were made as usual, and demonstrated that the normal aqueous humor contains no hemolytic complement; but the liquid formed in the anterior chamber of the eye a short time after the withdrawal of the normal aqueous humor, contains hemolytic complement in considerable quantity, though always in less amount than is to be found in the serum from the same animal. We have accepted Levaditi's logic for the bacteriolytic complements, and applied it to the study of the hemolytic

complement considered in our work, and must therefore conclude that this hemolytic complement is present in the circulating blood-plasma.

The complement present in the aqueous humor of new formation disappears from the liquid formed for a third time, if this liquid be allowed to remain in the eye for twelve hours or more. This disappearance, and the fact that the newly formed aqueous humor contains always less complement than the serum from the same animal, can be explained, we believe, by a consideration of the conditions of the circulation in the eye. The complement, present in a free state in the circulating plasma, is withheld from the anterior chamber, under normal conditions, by the filtering or the dialytic action of the normal membranes which separate the blood stream from the chamber; under the influence of the negative pressure created by the withdrawal of the normal aqueous humor, the blood-vessels become distended and abnormally porous, and complement passes into the chamber; as soon as the eye has filled, the blood-vessels revert to their normal condition, and the complement-containing fluid is gradually replaced by a fluid from which the complement has been again filtered out by the membranes.

The absence of hemolytic complement from the amniotic fluid, though present in the blood-serum of both mother and foeti, which we were able to demonstrate in one instance, lends support to this view. We have also been able to readily demonstrate that the hemolytic complement under consideration is removed from a serum by passing that serum through a Pasteur-Chamberland filter.

This indirect proof of the presence, in a free state, of hemolytic complement in the circulating blood-plasma was supported by direct experiment with so-called „plasma", obtained by centrifugalizing fresh blood in cooled, paraffined centrifuge tubes, and removing the supernatant fluid from the sediment of cells, before coagulation takes place. We are fully aware that the fluid obtained after the coagulation of this clear supernatant liquid — it coagulates after a longer or shorter interval, even when kept in paraffined tubes at low temperature — is not identical with the circulating blood-plasma; the process of coagulation doubtless removes many of the substances contained in the circulating plasma. It, however, approaches as nearly as is practically possible, the circulating blood-plasma. We have found that the amount of hemolytic complement contained in such „plasma" and the amount contained in the serum of the same animal is practically identical; an increase of hemolytic complement in the serum means an increase in the „plasma" of that animal.

The results of our work, so briefly outlined above, may be assembled in the following conclusions:

1) The hemolytic complement to which we have limited our work, may be increased in the serum of rabbits by the intravenous injection of Staphylococcus pyogenes aureus, the subcutaneous injection of sterile oil of turpentine, and by the intrapleural injection of sterile aleuronat suspension.

2) This hemolytic complement is not secreted by the leucocytes of any type, but is present in the serous part of an exudate.

3) This hemolytic complement is not present in the normal aqueous humor; it is contained in the aqueous humor of new formation, which has been secreted after the blood-vessel walls and the retinal cell covering of the iris and the ciliary processes have been rendered abnormally

porous under the influence of the negative pressure caused by the emptying of the anterior chamber.

4) This hemolytic complement — according to the logic of the adherents of the theory of the leucocytic origin of the complements — must therefore be present in a free state in the circulating blood-plasma.

5) The presence of this hemolytic complement in the newly formed aqueous humor is a further argument against the theory of the leucocytic origin of the hemolytic complements, for our own studies demonstrate, and Levaditi himself says, that there are no leucocytes present in this newly formed liquid.

6) This hemolytic complement, present in the newly formed aqueous humor, disappears again after a short lapse of time from the fluid of the anterior chamber; this phenomenon is to be explained by the fact that as soon as the conditions of normal circulation are restored, the complement-containing fluid is replaced by a normal complement-free liquid — the normal aqueous humor.

7) Direct experiment with so-called „plasma", i. e., with a fluid which approaches as nearly as is practically possible the circulating plasma, proves that this hemolytic complement is present in a free state in the circulating blood-plasma. These experiments furnish additionel evidence that this hemolytic complement is not contained in the leucocyte and set free by the process of coagulation.

8) The artificially increased natural resistance according to R. Pfeiffer, is to be explained, in part at least, by the fact that the preliminary injection of fluids into the peritoneal cavity, by altering the natural conditions of osmosis, increases the porosity of the membranes which separate the circulating blood from the peritoneal cavity; this abnormal porosity is indicated by the extravasation of the leucocytes and the diapedesis of the red cells. The complements then pass into the peritoneal cavity and there reactivate the normal amboceptors, which are either pre-existing in the normal lymph of the peritoneal cavity — for they are dialysable — or which arrive with the complements. The natural resistance of the animal to intraperitoneal infection in therefore increased by the unnatural accumulation, at the site of the injection, of normal complements and normal amboceptors.

---



# Ueber das polyvalente Streptokokkenserum,

## bereitet durch menschliche Streptokokkenstämme ohne Tierpassage.

Von Prof. Dr. **Tavel**, Bern.

In einer von Moser in No. 41 der Wiener klin. Wochenschrift veröffentlichten vorläufigen Mitteilung wird über die Erfolge berichtet, die bei Scharlach vermittelst einer aus Streptokokkenstämmen von Scharlachfällen gewonnenen Serums erzielt worden sein sollen. Der Autor hebt dabei hervor, daß die zur Immunisierung benutzten Streptokokkenkulturen keinen Tierkörper passiert hatten.

In einer Fußnote fügt er nun hinzu: „Mittlerweile hat auch Tavel ein Streptokokkenserum mit verschiedenen Streptokokken anderer Erkrankungen in analoger Weise herzustellen versucht."

In Wirklichkeit liegen die Verhältnisse wie folgt: Im März 1899 wurde in den Berichten aus dem schweizerischen Serum- und Impfinstitut eine kleine Abhandlung über Streptokokkenserum publiziert, in welcher sich folgender Passus findet: „Das mit diesen Streptokokken (den Marmorekschen) erzielte Serum zeigte sich auch wirkungslos gegen Infektionen mit Streptokokken anderer Provenienz, so daß man allmälig zur Ueberzeugung kommen mußte, daß ein Streptokokkenserum nur die Infektionen mit demselben Streptococcus oder jedenfalls nur die Infektionen mit verwandten Arten beeinflussen könnte.

Diese Verhältnisse haben die Arbeiten von Denys und seinen Schülern gezeitigt, d. h. sie veranlaßten diesen Forscher, zu versuchen, ob die Immunisierung mit verschiedenen Streptokokkenarten bessere Resultate bei der Therapie geben würde. Experimentell zeigt sich seine Theorie der Polyvalenz des Serums als richtig und sollen auch die klinischen Resultate der Behandlung mit dem polyvalenten Serum viel besser sein, als die mit dem Marmorekschen Serum.

Schon vor dem Erscheinen der Denysschen Mitteilung hatten wir es aus theoretischen Gründen als zweckmäßiger erachtet, nur solche Streptokokkenarten zur Immunisierung von Pferden anzuwenden, die bei Menschen recht virulent waren, und haben seither unsere Immunisierungen nur insofern geändert, daß wir zahlreiche Arten von beim Menschen gewonnenen Streptokokken zur Immunisierung anwenden, um ein möglichst polyvalentes Serum zu bekommen. Wir vermeiden mit Absicht jede Tierpassage und erhalten die originale Virulenz mittelst der so wertvollen Marmorekschen Methode der Serumzüchtung“.

Daß Moser von dieser Mitteilung keine Kenntnis hatte, ist sehr wohl möglich, aber Ende 1899 erschien die 2. Auflage des doch sehr verbreiteten Buches von Dieudonné: Schutzimpfung und Serumtherapie, in welchem man auf Seite 172 lesen kann:

„Tavel verwendete aus diesen Gründen nur solche Streptokokkenarten zur Immunisierung von Pferden, die beim Menschen recht virulent waren, und zwar um gleichfalls ein möglichst polyvalentes Serum zu erhalten, zahlreiche Arten von beim Menschen gewonnenen Streptokokken. Mit Absicht wurde jede Tierpassage vermieden und die Virulenz nur durch Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden erhalten.“

Im Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte, 1901, No. 8 erschien ein Artikel: „Ueber Streptokokkenserumtherapie“ von Tavel und Krumbein, wo dieses neue Prinzip wieder erwähnt und auf die Besprechung von Dieudonné aufmerksam gemacht wird.

Es werden in diesem Artikel die Resultate von 13 Fällen, die mit diesem Serum behandelt wurden, mitgeteilt.

Am Chirurgenkongreß in Berlin April 1902, wurde diese Darstellungsmethode des Serums, die mittlerweile auch von Menzer speziell für die Rheumatismusstreptokokken befolgt wurde, wiederum unter Angabe der Resultate bei 46 Fällen mitgeteilt.

Menzer giebt in einer Arbeit über diese Frage ganz loyal zu, daß die Methode von mir stamme: Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 47. Heft 1 u. 2.

Ferner erschien in No. 28, 29, 30, 31, 32 und 33 der klinisch-therapeutischen Wochenschrift in Wien meine ausführliche Arbeit: „Ueber die Wirkung des Antistreptokokkenserums“, wo die Entwickelung der verschiedenen Phasen der Darstellung der Streptokokkensera in extenso angegeben wird und 46 der bereits behandelten Fälle ebenfalls eingehend erwähnt werden; zu gleicher Zeit wird in der Aufstellung der

zur Immunisierung verwendeten Streptokokkenstämme auch ein Scharlachstamm angeführt.

Es geht aus dieser Darstellung hervor, daß die Bereitungsweise des Moser'schen Serums, wie auch des Menzerschen nichts anderes ist, als die Applikation des Prinzips auf Scarlatina- und Rheumatismus-Streptokokken, das ich vor 3 Jahren bereits publiziert und praktisch erprobt habe.

Das Prinzip des Moserschen Serums ist also schon mehrere Jahre alt und stammt von mir; unser nach diesem Prinzip dargestelltes Streptokokkenserum wird seit 3 Jahren bereits gebraucht, es kann also von einem „mittlerweile stattgefundenem Versuche der Herstellung eines solchen Serums meinerseits“ keine Rede sein.

---



# Beiträge zur Kenntnis des Schweinerotlauf-Serums.

[Aus dem wissenschaftlichen Laboratorium des Budapester Impf- und Seruminstitutes Jenner-Pasteur.]

Von Dr. **Ladislaus Deutsch,** Budapest,
technischer Leiter des Institutes.

Das Schweinerotlauf-Serum ist eines der am längsten bekannten Sera. Schon im Jahre 1891, kurz nachdem Behring in seiner mit Kitasato über das Tetanusserum verfaßten Arbeit (1890) den Grundstein zu unseren Kenntnissen über passive Immunität gelegt, publizierten Emmerich und Mastbaum ihre Versuche, durch welche eine rotlauffeindliche Substanz im Blute hypervaccinierter Tiere nachgewiesen wurde. Wie durch das Studium des Diphtherie- und Tetanusserums uns das Gebiet der Antitoxine aufgeschlossen wurde, ebenso gelangten wir zuerst durch das Rotlaufserum zum Auffinden der für das Verständnis der bakteriellen Infektionskrankheiten hochwichtigen zweiten Gruppe der Immunkörper, d. i. der antibakteriellen Schutzkörper. Heute, nach den Untersuchungen von Lorenz, Schütz und Voges und neuerdings auch Leclainches, verließ das Studium des Rotlaufserums schon den Rahmen der Laboratoriumsversuche, um als eines unserer besten bekannten humoralen Arzneimittel in den Arzneischatz der praktischen Tierärzte aufgenommen zu werden.

In der vorliegenden Mitteilung werde ich über einige Erfahrungen berichten, welche sich mir als Leiter einer zur Darstellung der bakteriologischen Impfstoffe und Sera 1901 begründeten Anstalt, des Institutes Jenner-Pasteur in Budapest, während des Studiums der Rotlaufsera ergeben haben.

Als Serumspender benutze ich ausschließlich Pferde. Der Bacillusstamm, dessen ich mich für die Immunisierungen bediente, entstammt einer dem Institute von Prof. Leclainche-Toulouse in liebenswürdigster Weise übermittelten Kultur mittlerer Virulenz; 1 ccm der 2-tägigen Bouillonkultur tötete die erwachsene Taube in $2^1/_2$—3 Tagen nach einer in den Brustmuskel erfolgten Injektion. Durch 12 Taubenpassagen erhöhte sich die Virulenz derart, daß der Bacillus endlich in der Dosis von $^1/_2$ ccm für die Taube in 36—42 Stunden tödlich wurde.

Mit diesem Stamme, dessen Virulenz durch alle 4—5 Wochen erfolgte Taubenpassagen seither erhalten geblieben, wurden die Pferde immunisiert. Das Pferd eignet sich ganz vorzüglich zur Bereitung des Rotlaufserums; es reagiert nicht besonders stark, es läßt sich betreffs Immunität „hochtreiben“, endlich liefert es, was in der Praxis wichtig, allwöchentlich mehrere Liter Blutes; deshalb benutzen auch sämtliche Anstalten, die sich heute mit der Herstellung des Rotlaufserums befassen (Höchst, Landsberg, Prenzlau, Toulouse, Bern), Pferde zur Serumgewinnung.

Unsere Pferde erhielten die Bouillonkulturen am Anfange subkutan, später aber gingen wir zu den intravenösen Injektionen über, da bei dieser Applikationsweise der erreichte Immunitätsgrad bei weitem höher ist.

Die erste intravenöse Injektion einer 2—3-tägigen Kultur ruft in der Dosis von 50 ccm bei den Pferden gewöhnlich ziemlich schwere Symptome hervor. Einige Minuten nach der Injektion (mittels Troicarts in die Jugularis) treten Zittern, dann Kolikschmerzen, manchmal mit profuser Diarrhöe, auf, die Tiere wimmern schmerzhaft, werfen sich auch zu Boden, wo sie manchmal auch viertelstundenlang in schwerer Prostration liegen bleiben. Bei manchen Tieren entwickelt sich nach jeder Injektion ein 1—2 Stunden persistierender Nesselausschlag. 1 Stunde nach der Injektion beginnt die Temperaturerhöhung: das Fieber steigt innerhalb 4—5 Stunden auf 39—40,5° und bleibt stundenlang auf dieser Höhe. Nach 10 Stunden findet man die Aftertemperatur noch immer etwas erhöht (38,5°) und die normalen Verhältnisse kehren erst nach 24 Stunden zurück. Die Nahrungsaufnahme ist während der ersten 12 Stunden gleich Null, sie beginnt erst, wenn das Fieber gewichen. Wurde die erste Injektion subkutan appliziert, dann verschiebt sich diese typische Fieberkurve mit 5—6 Stunden und auch der Gipfel der Fiebererhöhung liegt tiefer.

Die Tiere erhalten allwöchentlich eine Injektion und steigerte ich die Kulturdosis gewöhnlich um das $^1/_2$-fache. Die einzelnen Serumpferde verhalten sich betreffs der größeren Dosen sehr verschieden: Bei einzelnen fanden wir die späteren Reaktionen kaum ausgesprochen, wo bei anderen durch dieselbe Injektion sogar bedenkliche Symptome hervorgerufen wurden. In solchen Fällen von erhöhter Sensibilität müssen die Injektionsdosen durch sorgfältiges Erwägen der einzelnen Reaktionserscheinungen (Temperatur, Gewichtsverlust etc.) bestimmt werden. In zweifelhaften Fällen blieben wir lieber bei der letzten Dosis und steigerten dieselbe bloß dann, wenn die letzte Gewichtsabnahme vollständig repariert war. Auf diese Weise gelangten wir in den meisten Fällen innerhalb 2—3 Monaten bis zur Einzeldosis von 450 ccm; wohl kam es bei einem unserer Tiere nach einer viel geringeren Kulturmenge zu einer mit monatelang währendem Siechtume einherschreitenden chronischen Sehnen- und Gelenkentzündung, ein zweites Tier mußte sogar infolge akuter Endocarditis vernichtet werden.

Wenn die Injektionen auch monatelang fortgesetzt werden, kommt es doch nie zu einer so vollständigen Giftimmunität, als es bei den Diphtherietieren der Fall ist. Selbst solche Pferde, deren Serum schon ganz kräftige rotlaufwidrige Eigenschaften besitzt, reagieren auf die Reaktion von selbst mittleren Mengen (100 ccm) mit einer Fieberbewegung; wir sahen auch manchmal eine förmliche Ueberempfindlichkeit, so daß — hauptsächlich bei zu raschem Nacheinanderfolgen der

Injektionen — durch dieselbe Dosis eine um vieles größere Reaktion hervorgerufen wurde, als z. B. vor einer Woche.

Die Erklärung dieser Erscheinung fällt denjenigen nicht schwer, die schon Immunisationsversuche mittels Bacillusleibern angestellt haben; denn wir wissen ja, daß der tierische Organismus sich an die plasmatischen Gifte der Bakterien, im Gegensatze zu den Toxinen, außerordentlich schwer gewöhnt. Ich fand selbst auch (1), daß die gegen den Typhusbacillus hypervaccinierten Meerschweinchen, obwohl ihr Serum den Titre von 1 cg besessen, von derselben Menge abgetöteter Typhuskultur abgetötet werden, wie die Kontrolltiere.

Bei behutsamem Vorgehen vertragen die Pferde den immunisatorischen Vorgang, wie gesagt, ganz gut, und kann es bei denselben allmählich zu ganz beträchtlichen Gewichtszunahmen kommen. Eines unserer Serumtiere stieg innerhalb 6 Monaten von 420 kg auf 525 kg, ein zweites von 423 auf 482, ein drittes von 410 auf 495.

Durch die Einverleibung der Rotlaufkultur wird eine spezifische Reaktion im Tierkörper hervorgerufen, die zum Erscheinen spezifischer Antikörper führt. Im Versuche offenbart sich der Gehalt des Blutes an Antikörpern hauptsächlich durch folgende zwei Wirkungen: a) in vitro werden die Rotlaufbacillen durch das Immunserum agglutiniert, b) im Tierkörper werden sie dagegen durch das Serum vernichtet. Der lange Kampf, der betreffs der Identität der als Agglutinine bezeichneten Träger der Agglutinationswirkung mit den bakterienfeindlichen Schutzkörpern von den verschiedenen Forschern geführt wurde, scheint in der letzten Zeit im Sinne der Dualitätstheorie entschieden zu sein. Speziell für den Typhusbacillus wies ich (1) die Verschiedenheit der beiden Antikörper bestimmt nach, indem ich gezeigt, daß die Milz beim immunisierten Tiere als Ursprungsstärke der Schutzkörper, nicht aber der Agglutinine anzusprechen ist. Diese Versuche sind erst kürzlich von Castellani (2) nachgeprüft und bestätigt worden, so daß ihre Schlußfolgerungen als nunmehr feststehend betrachtet werden können.

Ich bemerke schon jetzt, daß meine diesbezügliche Untersuchung betreffs des Rotlaufserums zu denselben Ergebnissen geführt haben, indem ich keine Parallele zwischen agglutinierender und Schutzkraft nachzuweisen vermochte. Die beiden Wirkungen sollen demnach gesondert betrachtet werden.

### A. Die agglutinierende Wirkung des Serums.

Wenn wir eine 2—3-tägige, gut gewachsene Schweinerotlaufkultur mit unserem Rotlaufserum versetzen, erhalten wir je nach der Stärke und der Dosis des Serums eine Agglutination wechselnder Intensität. Ein starkes Serum verursacht schon innerhalb 2—3 Minuten eine ganz manifeste Flöckchenbildung, und kommt es innerhalb 30 Minuten zu einer vollständigen Präzipitation und Aufhellung der Kultur. Die agglutinierende Wirkung des Rotlaufserums ist wohl schon von Mesnil beobachtet worden, aber exakte Angaben hierüber liegen bisher in der Litteratur nicht vor. Meine eigenen Versuche beziehen sich 1) auf die agglutinierende Wirkung des normalen Pferdeserums, 2) auf die Entwickelung der Immunagglutinine im Serumtier, 3) auf das Verhältnis zwischen Rotlaufagglutininen und Schutzkraft.

1) Durch normale Pferde-, Kaninchen- und Meerschweinchensera werden Rotlaufbacillen bloß in schwachem Grade beeinflußt. Am stärksten wirkt noch das Pferdeserum, das bis zur Verdünnung von 1 : 3 und

1 : 5 beträchtlich agglutiniert; die Wirkung erreicht aber die Stärke von 1 : 10 nicht mehr. Kaninchen und Meerschweinchen wirken bis zu 1 : 2, höchstens 1 : 3.

2) Schon nach der ersten, stärker nach der zweiten Rotlaufinjektion sind Immunagglutinine im Pferdeserum nachweisbar, und in dieser Hinsicht besteht eine vollständige Parallele mit dem Erscheinen der Typhusagglutinine, von denen ich gezeigt, daß dieselben gleichfalls nach einer einzigen Typhusinjektion im Meerschweinchenblute nachweisbar werden. Nach einer jeden Injektion verstärkt sich die Agglutinationskraft des Serums, um endlich ziemlich hohe Titrewerte zu erreichen. Als Titrewert betrachtete ich jenes Mengenverhältnis zwischen Bouillonkultur und Serum, das in 12 Stunden zum Auftreten einer makroskopisch noch wohl wahrnehmbaren partiellen Agglutination Gelegenheit giebt. Als „partiell" bezeichne ich jene Agglutination, wo über die zusammengeballten Bacillenklumpen noch unveränderte, homogene Kultur zu sehen ist; im Gegensatze zur totalen Agglutination, wo sich das ganze Kulturröhrchen vollständig klärt. Uebrigens sind diese beiden Grenzwerte in konstantem Verhältnisse, in dem der Grenzwert der partiellen Agglutination gewöhnlich etwa in der doppelten Verdünnung des totalen Grenzwertes liegt. Wenn demnach der totale Grenzwert mit 400 bestimmt erscheint, so ist es wohl zu erwarten, daß eine partielle Agglutination noch in einer Verdünnung von 1 Serum : 800 Kultur wahrnehmbar sein wird, dieselbe aber bei 1000facher Verdünnung ausbleibt.

Was nun die Entwickelung der spezifischen Agglutination bei den einzelnen fast gleich behandelten Tieren betrifft, so fand ich folgende Thesen:

a) Durch eine jede Bacillusinjektion wird der Agglutinationstitre auf 1—2 Tage vermindert, dann erst erfolgt, zuerst allmählich, dann — etwa vom 8. Tage an — ein schnelleres Ansteigen der Agglutinationskurve. Wahrscheinlich wird dieses eigentümliche Verhalten, das übrigens als Analogon der bekannten terrassenförmigen Diphtherieantitoxinkurve betrachtet werden kann, von der Bindung der Agglutinine durch die injizierten agglutininbildenden Substanzen hervorgerufen.

b) Abgesehen von diesen Schwankungen, ist im Laufe der Zeit doch eine progressive Tendenz der Agglutinationswerte nachweisbar: Die maximalen Werte erscheinen etwa im 4. Monate der Behandlung, welches Maximum nicht mehr zu überschreiten ist. Bei den einzelnen Tieren findet man trotz derselben Behandlungsweise ganz verschiedene Maximalwerte. Bei 5 Pferden ergaben sich als totale Grenzwerte 1) 1000, 2) 2500, 3) 2000, 4) 5000, 5) 10000, welche Werte seither (seit einem Jahre) unverändert blieben.

c) Wie die einzelnen Maxima voneinander verschieden sind, ebenso verschieden sind die Kurven trotz derselben Behandlungsweise der einzelnen Pferde. In der folgenden Tabelle fasse ich die Resultate der von mir an 5 Pferden diesbezüglich angestellten Titreuntersuchungen zusammen.

Wie zu ersehen, sind die Werte stark verschieden. Der tierische Organismus ist eben keine inerte, fermentescible Substanz, von welcher durch eine bestimmte Fermenttätigkeit unter gleichen Verhältnissen gleiche Mengen des spezifischen Produktes abgespalten werden: vielmehr ist jeder Vorgang, welcher im Umwege über die Assimilation der in den Kulturen dem Tiere einverleibten, von mir als „agglutogen" be-

| Name | „Virus" | „Hajnal" | „Rajta" | „Czicza" | „Szikra" |
|---|---|---|---|---|---|
| Datum: | | | | | |
| 30. Septemb. | 200 | 50 | 20 | 300 | 300 |
| 9. Oktober | 400 | 200 | 100 | 1000 | 1 000 |
| 19. „ | 500 | 1000 | 1000 | 1000 | 1 000 |
| 4. Novemb. | 1000 | 1000 | 1000 | krank, 1 Monat lang keine Injektion | 5 000 |
| 13. „ | 1000 | 1000 | 2000 | 500 | 5 000 |
| 26. „ | 1500 | 2000 | 5000 | 500 | 10 000 |

zeichneten Substanzen (vielleicht die äußere Schicht des Bacillusleibes) zur Produktion der Agglutinine, als Antikörper, führt, als streng vitaler Prozeß aufzufassen, der von der Lebens- und Reaktionsfähigkeit, dem fermentbildnerischen Vermögen der assimilatorischen Mesoblastzellen abhängig erscheint. Unter anderem weisen wir auf das eigentümliche Verhalten des Tieres No. IV („Czicza") hin, dessen Serum während einer fieberhaften Gelenk- und Sehnenentzündung eine starke Einbuße der Agglutinationskraft erlitten und auch später erst in einigen Monaten mit vieler Mühe zur neuerlichen Steigerung gebracht werden konnte.

3) Mit der Frage, ob man von dem Agglutinationswerte eines Serums auf den Schutzwert desselben Rückschlüsse ziehen kann, befaßte ich mich ganz eingehend. Wenn mir nämlich auch ganz klar gewesen, daß die Agglutinine mit den schützenden Substanzen nicht identisch sein können, da ihre Entwickelung an verschiedenen Stellen vor sich geht, konnte ich mich vor jener Eventualität nicht verschließen, daß die beiden Substanzen parallel zueinander einherschreiten, wie ich es für den Typhusbacillus in der That schon vor 3 Jahren nachgewiesen habe. Es ist klar, daß man sich in diesem Falle für die Wertbestimmung des Rotlaufserums der leicht ausführbaren Agglutinationsprobe statt des kostspieligen Tierexperimentes bedienen würde. In der folgenden Tabelle fasse ich eine Serie diesbezüglicher Untersuchungen zusammen. Ich bemerke, daß ich stets für die Bestimmung der Serumschutzkraft Tauben benutzt habe; die angewendete Kultur tötete in der Dosis von $^1/_2$ ccm die Kontrolltaube in $1^1/_2$—$2^1/_2$ Tagen. In meiner Tabelle bezeichne ich die angewendete Virusmenge mit „V", die Serummenge mit „S", der Ausdruck „† 3 T" bedeutet: gestorben am 3. Tage, der Ausdruck „lebt", soviel wie am Leben geblieben.

Vergleichende Tabelle des Agglutinations- und Schutztitres.

| Name der Pferde | I. „Virus" | | II. „Hajnal" | | III. „Rajta" | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Datum | Agglutin.-Titre | Schutztitre | Agglutin.-Titre | Schutztitre | Agglutin.-Titre | Schutztitre |
| 30. September | 200 | V + 4,0 S = † $2^1/_2$ T | 50 | V + 4,0 S = † 5 T | 20 | V + 4,0 S = † 2 T |
| 9. Oktober | 400 | V + 2,0 S = † $3^1/_2$ T | 200 | V + 1,0 S = † 30 T | 100 | V + 2,0 S = lebt |
| 19. „ | 500 | V + 1,0 S = lebt | 1000 | V + 1,0 S = † $2^1/_2$ T | 1000 | V + 1,0 S = † $4^1/_2$ T |
| 4. November | 1000 | V + 1,0 S = † $5^1/_2$ T | 1000 | V + 1,0 S = † $3^1/_2$ T | 1000 | V + 1,0 S = † $4^1/_2$ T |
| 13. „ | 1000 | V + 1,0 S = lebt | 1000 | V + 1,0 S = † $2^1/_2$ T | 2000 | V + 1,0 S = lebt |
| 26. „ | 1500 | V + 0,5 S = lebt | 2000 | V + 1,0 S = lebt | 5000 | V + 0,5 S = lebt |

| Name der Pferde | IV. „Czicza“ | | V. „Szikra“ | | Notizen | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Datum | Agglutin.-Titre | Schutztitre | Agglutin.-Titre | Schutztitre | Virus | Kontrolltier |
| 30. September | 300 | V + 4,0 S = † 10 T | 300 | V + 4,0 S = † 8 T | 24-stünd. 0,5 ccm | † 1½ T |
| 9. Oktober | 1000 | V + 2,0 S = lebt | 1 000 | V + 2,0 S = † 3½ T | 48-stünd. 0,5 ccm | † 1½ T |
| 19. „ | 1500 | V + 1,0 S = lebt | 1 000 | V + 1,0 S = † 10 T | 48-stünd. 0,5 ccm | † 2 T |
| 4. November | | | 5 000 | V + 1,0 S = † 3¼ T | 48-stünd. 0,5 ccm | † 2¼ T |
| 13. „ | 500 | V + 1,0 S = † 11 T | 5 000 | V + 1,0 S = † 3¼ T | 48-stünd. 0,5 ccm | † 2 T |
| 26. „ | 500 | V + 1,0 S = lebt | 10 000 | V + 1,0 S = † 5½ T | 24-stünd. 0,5 ccm | † 2½ T |

Es ist ersichtlich, daß, obzwar im Lauf der Behandlung bei demselben Tiere das Steigen und das Sinken der Agglutination und Schutzwerte ziemlich parallel erfolgt, dieser Parallelismus doch weit entfernt ist, so beständig zu sein, um einer Schutzwertbestimmungsmethode zur Grundlage dienen zu können. In der Serie vom 9. Okt. z. B. erscheinen die Tiere gegen einen in 1½ Tagen die Kontrolltauben tötenden Virus durch je 2 ccm Serum vom Agglutinationstitre 100 und 1000 geschützt, wo ein drittes Serum vom Titre 200 die in 30 Tagen zum Tode führende Kachexie nicht mehr verhindern kann, ja! 2 Seren vom Agglutinationswerte 400 und 1000 entwickeln bloß eine schwache Schutzkraft, indem der Tod statt nach 1½ Tagen, bloß um 2 Tage verzögert, in 3½ Tagen eintritt.

In der Serie vom 13. November wird das Leben der mit dem bis zu 1 : 500 agglutinierenden Serum No. IV behandelten Taube um 9 Tage verlängert, wo das bis zu 1 : 5000 agglutinierende Serum No. VI bloß ein geringfügiges Verlängern des Lebens hervorzurufen vermag. Dennoch führten meine Untersuchungen zu folgenden Schlüssen:

a) Wenn das Agglutinationstitre eines Serums unerwartet eine plötzliche Verminderung erfährt, kann man mit Wahrscheinlichkeit auf ein plötzliches Absinken der Schutzkraft schließen (s. Tier No. IV).

b) In der Praxis ist bloß ein solches Serum zu verwenden, welches noch im Verhältnisse von 1 Teil zu 1000 oder 2000 Kultur innerhalb 12 Stunden eine pünktlich wahrnehmbare Agglutination verursacht, denn meinen Untersuchungen zufolge erreichen Seren, deren Agglutinationstitre sich unter 1000 befindet, nie die von Leclainche (3) als minimalste Schutzkraft erforderte Stärke von „½—1 ccm Serum contra ½ ccm Virus“.

## B. Die Schutzkörper des Serums und Messung derselben.

Wie aus den obigen Experimenten schon ersichtlich, ist das spezifische Serum imstande, die Tiere vor der experimentell tödlichen Rotlaufinfektion zu schützen. Als Substrat dieser Schutzwirkung werden die Schutzkörper betrachtet. In früheren Zeiten, als die direkte Einwirkung dieser Stoffe auf die betreffenden Bacillen noch unbekannt gewesen, wurde von vielen Forschern, wohl hauptsächlich unter dem Einflusse der französischen Schule, die Wirkung als eine spezifische Stimu-

lation der Körperzellen aufgefaßt. Die französische Schule injizierte, im Einklange mit dieser Lehre, das zu untersuchende Serum 12—24 Stunden vor der Infektion und untersuchte, ob das Serum den Tieren einen sicheren Schutz zu gewähren vermag. Dieser Schutz wurde von ihnen als präventive Wirkung, die Schutzkörper als „Corps praeventifs“ bezeichnet.

Seit Pfeiffers grundlegenden Untersuchungen über die spezifische Baktericidie des Choleraschutzserums und vorzüglich, seitdem Bordet die erste genaue Analyse der Schutzwirkung durchgeführt, ist es unzweifelhaft, daß von den Schutzkörpern eine direkte spezifische Wirkung auf das betreffende Bakterium ausgeübt wird.

Bordet wies zuerst auf das Zusammenwirken der heute schon so bekannten zwei Substanzen, des thermostabilen Schutzkörpers und des bei 56° zu Grunde gehenden Alexins hin. Der Zwischenkörper (Anticorps, Substance sensibilisatrice, Ehrlich's Zwischen- oder Immunkörper, Fixateur, Copula, Desmon) wird von dem Bacillus gebunden (Gruber) und diese Gruppe wird dann von dem Alexin aufgegriffen und zerstört. Das Alexin oder Komplement (Ehrlich) greift bloß einen solchen Bacillus an, dessen Affinitäten für den Zwischenkörper gesättigt erscheinen. Ob aber die Bakterienvernichtung auch im Tiere diesem Schema entsprechend vor sich geht, ist allerdings heute noch zweifelhaft, um so mehr, als durch Gengous (4) neueste Untersuchungen dargetan wurde, daß das Alexin keinen Bestandteil des lebenden kreisenden Plasmas bildet. Es findet sich vielmehr nach diesem Autor bloß in den Leukocyten des kreisenden Blutes und tritt in den Blutsaft, ähnlich dem Alex Schmidtschen Fibrinfermente, bloß im Falle einer Leukocytenläsion oder beim Tode derselben über. Die Serumwirkung würde demnach auf folgende Weise zustande kommen: Die Bakterien werden von den betreffenden Schutzkörpern imprägniert und gelangen nun, mit dem spezifischen Schutzkörper beladen, in das Innere der Phagoleukocyten, wo sie, vielleicht in den Verdauungsvakuolen, von den intracellulären Alexinen angegriffen und zerstört werden. In vivo geht die Bakterienzerstöruug bloß dann dem in vitro-Experimente ähnlich vor sich, wenn das injizierte Schutzserum ganz frisch ist: in diesem Falle werden dem Tierkörper außer den Schutzkörpern auch fremde, doch für die Bakterienvernichtung ebenso, wie die eigenen verwertbaren Alexine einverleibt, welch fremdes Alexin die Rolle der Zellen zu übernehmen und die mit dem Zwischenkörper imprägnierten Bacillen an und für sich zu vernichten vermag.

Wir wollen nun das Studium der Rotlaufschutzkörper von diesem Gesichtspunkte aus vornehmen.

1) Nachweis der Schutzkörper durch die spezifische Baktericidie. Hier muß die Wirkung des frisch gewonnenen Serums von dem einige Tage alten streng auseinandergehalten werden. Jenes enthält außer dem Zwischenkörper auch das thermostabile Alexin, ist daher zur Vernichtung der Bacillen geeignet, dagegen entwickeln sich die Bakterien in dem 3—4 Tage alten Serum ganz gut weiter, gehen aber zu Grunde, wenn ihnen das Alexin in der Form eines frischen Serums gereicht wird.

Ich untersuchte daher die auch für die Praxis wichtige Frage, wie lange das Serum seine Alexinwirkung unter den denkbar günstigsten Verhältnissen (dunkler kühler Raum) behält. Behufs dieser Untersuchung beschaffte ich mir ein hämolytisches Serum

für Pferdeblutkörperchen, indem ich Kaninchen 5täglich je 5 ccm defibrinierten Pferdeblutes injizierte: nach 3 solchen Einspritzungen erhielt ich eine genügend kräftige Hämolyse bis zu dem Verhältnisse von 1 Teile Serum zu 8 Teilen einer 3,3-proz. Pferdeblutkörperchen-Emulsion in 0,9-proz. NaCl-Lösung. Bekanntlich sind in der Hämolyse gleichfalls 2 Substanzen thätig, die in ihrem Verhalten eine vollständige Analogie zur Schutzkörperwirkung bilden. Auch hier findet man das thermolabile Alexin, welches die mit dem Zwischenkörper imprägnierten Blutkörperchen aufzulösen vermag. Bei Seren, die auf 56° erhitzt wurden, bleibt die Auflösung der Blutkörperchen aus, sie erscheint aber, wenn das vernichtete Alexin durch ein fremdes alexinhaltiges Serum ersetzt wird: man spricht dann von einer Reaktivierung oder besser Komplettierung des Immunkörpers. Demzufolge sind die mit ihrem spezifischen Zwischenkörper beladenen Blutkörperchen als ein zum Nachweise des Alexins dienstbares Reagens zu bezeichnen: ein Serum, durch welches die imprägnierten Blutkörperchen gelöst werden, enthält Alexin, jenes, welches dieselben unbeeinflußt läßt, ist alexinfrei.

Einen Teil erhitzten hämolytischen Serums vermengte ich mit je 5 Teilen der 3,3-proz. Pferdeblutkörperchen-Emulsion, nach 6 Stunden (eine für die totale Absorption genügende Zeit) wurden die imprägnierten Blutkörperchen abcentrifugiert, sodann in konstantem Volumen einer Kochsalzlösung verteilt, mit $^1/_2$, 1, 2, 3 Teilen des zu titrierenden Serums vermengt und in meinen horizontal aufgehobenen Hämolysenkapillaren nach 12-stündigem Aufenthalte in Zimmertemperatur betreffs erfolgter totaler Lösung geprüft.

Ich fand, daß von einem Pferdeserum, welches z. B. einige Stunden nach der Blutentnahme noch in der Menge von $^1/_2$ Teile die in 5 Teilen befindlichen imprägnierten Blutkörperchen sämtlich aufzulösen imstande war, in 24 Stunden schon die doppelte Menge, nach weiteren 24 Stunden die 4—6fache Menge erforderlich war, nach 3 Tagen konnte ich selbst mit der 12fachen Menge, d. i. in 6 Teilen, die Komplettierung des Hämolysins nicht mehr erzielen. Andere Versuche stehen mit diesem genannten Versuche in Einklang, so daß ich heute 3—5 Tage altes Pferdeserum vollständig alexinfrei betrachte.

Ohne Kenntnis dieser Tatsache würde man die großen Unregelmäßigkeiten, welche sich in den Versuchen kundgeben, nicht verstehen können. Das frische Rotlaufserum tötet, im Verhältnis von 1 : 10 der Kultur zugesetzt, in kürzester Frist den größten Teil der Keime ab, wo sich schon nach 3 Tagen die Wirkung des Serums bloß in einer Agglutination kundgibt, ohne daß es zu einer Abnahme der Vitalität der agglutinierten Bacillen kommen würde. Da nun durch die Agglutination in Agarplattenversuchen eine Verminderung der Keimzahl vorgetäuscht wird, ist es nicht gestattet, durch die gewöhnliche Methodik des Baktericidieversuches Rückschlüsse über Variationen des jeweiligen Schutzkörpergehaltes zu ziehen.

Erst durch die Anwendung der Gram-Färbung gelang es mir, diese Schwierigkeit zu umgehen. Ich bemerkte nämlich des öfteren, hauptsächlich wenn die Krankheit länger als gewöhnlich, z. B. 4 Tage, dauert, daß in den Taubenleukocyten bloß eine geringe Anzahl der Rotlaufbacillen nach Gram gefärbt wird, die meisten Keime nehmen vielmehr einen blaß-violetten oder heliotropen Ton an, wo die extracellulären, im Plasma befindlichen Bacillen tiefblau erscheinen. Es lag nun nahe, daran zu denken, daß man durch dieses abnorme Tinktions-

verhalten, welches betreffs der Leukocyten einem Ausdruck der cellulären Baktericidie entspricht, auch die spezifische Wirkung des Vollserums nachzuweisen vermag. Tatsächlich fand ich, daß die Bacillen schon nach 12-stündigem Verweilen in dem alexinhaltigen frischen Immunserum die Fähigkeit der positiven Gram-Färbung eingebüßt haben. In den betreffenden Präparaten erscheinen die riesigen, aus Tausenden von Keimen bestehenden Bacillusgruppen entfärbt resp. mit der Kontrastfarbe tingiert, und bloß im Centrum der Häufchen finden sich, offenbar an einer alexingeschützten Stelle, 1—2 tiefblaue Bacillen. Durch 3 Tage altes Serum ohne fremdes Alexin kann diese Veränderung der Bacillen nicht mehr hervorgerufen werden.

2) Nachweis des Schutzkörpers durch die Methode der spezifischen Absorption (in vitro). Der erste Forscher, der auf die alexinbindende Fähigkeit der imprägnierten Bacillen hinwies, war Bordet. Aus seinen, sowie den später mit Gengou (5) zusammen publizierten Versuchen wissen wir, daß das Absorptionsphänomen zum Nachweise des Zwischenkörpers wohl dienlich erscheint. Ich stellte den Absorptionsversuch folgendermaßen an.

1) 1 ccm Rotlaufkultur + 0,5 ccm erhitztes Immunserum + 0,2 ccm frisches Normalpferdeserum.

2) 1 ccm Rotlaufkultur + 0,5 ccm erhitztes Normalserum + 0,2 ccm frisches Normalserum.

Nach 12 Stunden Zimmeraufenthalt prüfte ich die von dem Bodensatz abcentrifugierte Flüssigkeit betreffs Alexingehaltes, d. i. ich untersuchte, ob durch dasselbe ein erhitztes hämolytisches Serum komplettiert werden kann.

3) 1 ccm von der Flüssigkeit No. 1 + 0,5 ccm 3,3-proz. Pferdeblutemulsion + 0,2 ccm erhitztes Pferdeblut für hämolytisches Serum.

4) 1 ccm der Flüssigkeit No. 2 + 0,5 ccm Blutemulsion + 0,2 ccm erhitztes hämolytisches Serum. 4 Stunden Thermostat. Die Lösung der Blutkörperchen erfolgt bloß im Röhrchen 4, im Röhrchen 3 bleibt alles unverändert, im Röhrchen 1 fand demnach eine vollständige Absorption des Alexins durch die Bacillen statt, was als sicheres Zeichen des vorhanden gewesenen imprägnierenden Stoffes, der Bordetschen Sensibilatrice oder des Ehrlichschen Zwischenkörpers, hinweist.

Die Affinität der Bacillen zu ihrem Zwischenkörper kann dazu benützt werden, um ein Serum von dem Schutzkörper vollständig zu reinigen. Speziell in meinem Falle gelang diese Säuberung durch eine 3malige aufeinanderfolgende Absorption. Daß diese imprägnierende Fähigkeit ganz spezifisch ist, erhellt aus der schon von Bordet konstatierten und von mir an meinem Rotlaufserum mit Leichtigkeit nachgewiesenen Tatsache, daß andere Bakterien als die Rotlaufbacillen (z. B. Coli, Proteus) zu der Absorption des Alexins in Gegenwart des Rotlaufserums bloß in geringem Maße sind.

Die 3 beschriebenen Methoden (Baktericidie mittels Gram-Färbung, Alexinabsorption der Bacillen unter dem Einflusse des fraglichen Serums, spezifisches Absorbiertwerden durch die Rotlaufbacillen) sind an und für sich zum Nachweise des Schutzkörpers in einem Serum wohl anwendbar, zur quantitativen Austitrierung genügen sie aber nicht. Bis heute gelang mir das Auffinden einer auf dem Absorptionsversuch beruhenden, in vitro leicht quantitativ ausführbaren Methode der Schutzkörperbestimmung nicht, obwohl die Vorteile derselben ganz außerordentliche

waren. Ich behalte mir jedenfalls vor, in einer Publikation meine diesbezüglichen Resultate mitzuteilen.

Heute kann eine exakte Schutzkörperbestimmung bloß mit Hilfe von Tierexperimenten durchgeführt werden. Bevor wir aber die mittels der Tierexperimente erhaltenen Resultate behandeln, müssen wir in Kürze jenen Mechanismus kennzeichnen, durch welchen im Organismus die fremden Keime zerstört werden, dann erst kann die Rolle des Serums in diesem Kampfe erörtert werden.

Wie wir früher erwähnt, besitzen die Schutzkörper des Serums (anticorps) das Vermögen, die Widerstandsfähigkeit der Bakterien den normalen Schutzkräften der extra- oder intracellulären Alexine gegenüber zu nehmen. Tatsächlich sind ja Fälle bekannt, wo einzelne (empfindlichere) Bakterien, z. B. Cholera, unter dem Einflusse der beiden Körper im Organismus ebenso als in vitro einfach aufgelöst werden. In den neueren Zeiten, hauptsächlich unter dem Einflusse der Lehre von den Hämolysinen und den überaus einfach deutbaren hämolytischen Versuchen, besteht mehr als je die Neigung, den Kampf des Organismus gegen die Infektionserreger bloß als von den qualitativ oder quantitativ wechselnden Mengenverhältnissen der beiden Substanzen, d. i. der Zwischenkörper und die Alexine, abhängig zu ersehen, und im Einklange mit dieser Lehre dem durch Serum zu schützenden Tierkörper eine bloß passive Rolle im Kampfe mit den Infektionserregern zuzuschreiben. Desto mehr müssen wir heute darauf hinweisen, daß ohne Dazutun des Organismus selbst, bloß durch Zusammenwirkung der beiden Substanzen, die Infektionserreger bloß in den allerseltensten Fällen vernichtet werden; gewöhnlich wird die Rolle der endgiltigen Abtötung von den aktiv wirksamen Körperzellen übernommen. Von diesen Zellen wurden als Phagocyten von Metschnikoff bekanntlich die amöboiden Zellen des 3. Keimblattes bezeichnet, wie vorzüglich die Blutleukocyten, dann auch die ihnen nahestehenden Knochenmark-, Milzzellen, Leber und Lungenendothelien, welchen allen das Vermögen zukommt, Keime aufzunehmen und dieselben in ihren von digestiven Fermenten erfüllten Vakuolen aufzulösen. Daß die bakteriolytischen Sera; um ihre volle Wirksamkeit zu offenbaren, der Zellentätigkeit nicht entbehren können, wird am besten durch jene Versuche dargethan, in welchen gezeigt wird, daß jener tierische Organismus, dessen celluläre Aktivität irgendwie herabgestimmt wurde, trotz einverleibter Schutzstoffe die Infektion nicht zu bemeistern vermag. So wies z. B. Cantacuzène (6) schon im Jahre 1894 nach, daß opiumvergiftete Meerschweinchen, bei denen es zu einer Läsion der Protoplasmabeweglichkeit und der Phagocytose kommt, trotz überschüssigen Choleraserums der Vibrioneninfektion unterliegen, und im Jahre 1898 wies ich selbst auf die Anwesenheit leukocytenschädigender giftiger Substanzen in allen Kulturen hin, hypothetischer, bloß in ihrer Wirkung auf die amöboiden Zellen wahrnehmbarer Körper, welche ich als Leuko- oder Phagotoxine bezeichnet habe. Der regelmäßig gelingende diesbezügliche Versuch ist folgender: 2 Meerschweinchen erhalten je die doppelt-letale Dosis einer Typhusagarkultur mit hinreichenden Mengen Typhusserums; das eine der Tiere erhält daneben auch etwa die halbletale Menge der abgetöteten Typhusemulsion subkutan. Das zweite Tier verendet unter den Symptomen der allgemeinen septischen Infektion (also nicht bloß einer Vergiftung), wo das andere Tier mit dem Leben davonkommt. Ohne intake Reaktionsfähigkeit des Organismus kann eben das Serum seine Vollwirkung nicht ausüben: daher

auch bei vorgeschrittener Infektion, selbst auch durch den größten Schutzkörperüberfluß, das letale Ende nicht mehr aufgehalten werden kann. Theoretisch muß demnach jenes von der Pariser Schule aufgestellte Postulat, zur Immunisierung der Serumtiere womöglich toxinhaltige lebende Kulturen zu verwenden, eine Basis in dem bisher nicht offen präzisierten Bestreben finden, daß man, im Erkenntnisse jener hemmenden Wirkung, welche von den Leukotoxinen auf die volle Entfaltung der Serumschutzkörper ausgeübt wird, neben den spezifischen bakteriolytischen Substanzen auch solche Körper, etwa „Antileukotoxine", erhalte, welche die Wirkung jener Gifte auszuschalten vermögen. Diese Theorie, welche meines Wissens bis heute noch nicht klar formuliert wurde, findet Stützen in vielen praktischen Erfahrungen; so ist für das Pestserum nachgewiesen, daß bei gleichem Schutztitre, d. i. bei gleichem Gehalte an Schutzkörpern, bloß jenes Serum zur Heilung von Pestkranken geeignet erscheint, welches aus Pferden herstammt, die mit lebenden Vollkulturen vorbehandelt wurden, wo durch Immunisierung der Pferde mittels abgetöteter Bacillenleiber therapeutisch nicht verwendbare Sera zu erhalten sind. Wahrscheinlich enthält das Pestserum im ersten Falle außer dem Zwischenkörper auch ein antitoxinartiges „Antileukotoxin", durch welches die Leukotoxine abgefangen und ihre schädlichen Wirkungen aufgehoben werden. Ich verlieh schon mehrere Male jener Ansicht Ausdruck, daß die mit dem Ausdrucke der Virulenz bezeichnete Infektionstüchtigkeit der Bakterien als Resultierende der erwähnten Leukotoxine anzusehen sei, und daß, wenn z. B. behufs Virulenzerhöhung gegenüber einer Tierspecies ein Bakterium durch einen gewissen Tierkörper mehrmals hindurchgejagt wird („Passage"), das Bakterium sozusagen gegenüber den schädlichen plasmatischen oder cellulären Substanzen immunisiert wird, wobei es zum Anwachsen der Leukotoxinproduktionsfähigkeit kommt. Ist daher ein Keim besonders virulent für eine Tierspecies, so bedeutet dies meiner Ansicht nach so viel, daß demselben die Fähigkeit der Mesodermgiftproduktion zukommt. Diese Gifte wirken verschieden auf die einzelnen Tierspecies (daher die relativen Virulenzunterschiede); daraus aber, daß nach gewissen Beeinflussungen des Krankheitskeimes die Variation der Virulenz nicht für alle Tiere in gleichem Sinne erfolgt, ist zu ersehen, daß jene jüngst publizierte Theorie Pfeiffer's und Friedberger's (7), die Virulenz sei von der wechselnden Anzahl und Menge der haptophoren Gruppen der Bakterien abhängig, nicht ohne weiteres angenommen werden kann. Denn wenn z. B. der Rotlaufbacillus durch Kaninchenpassagen seine Virulenz für Schweine zum Teil einbüßt, für Kaninchen aber zugleich virulenter wird, kann dies unmöglich mit der Menge der Haptine erklärt werden. Gewiß sind auch meine hypothetischen Leukotoxine, da sie den Tierkörper angreifen und denselben zur Produktion von entsprechenden Gegensubstanzen reizen, eine Art von Haptinen im weiteren Sinne Ehrlichs, doch diese Haptine können gewissermaßen als Faktoren einer gegen bestimmte Tierspecies gerichteten, abwehrenden Sekretionstätigkeit der Bacillen, als lebender Organismen aufgefaßt werden. Die erhöhte Virulenz durch Tierpassagen wäre im Lichte dieser Auffassung als relative Immunität eines Bakteriums gegenüber der Passage-Tierspecies zu bezeichnen, welche Immunität als erhöhte Virulenz anderen Tier-

species gegenüber bloß in dem Maße der etwaigen ähnlichen chemischen Konfiguration der einzelnen tierischen Abwehrsubstanzen zu Tage tritt. Viele Beispiele gleichgerichteter Veränderungen der allgemeinen Virulenz bietet z. B. der Anthraxbacillus, da sowohl die Herabstimmung der Meerschweinchenvirulenz durch Wachstum in erhöhter Temperatur, wie auch das Erhöhen derselben durch Passagen stets von einer im selben Sinne zu Tage tretender Virulenzveränderung betreffs Mäuse, Kaninchen, Schafe, Rinder etc. begleitet wird. Bei diesen Tieren müssen wir annehmen, daß ihre den Milzbrandbacillus schädigenden Abwehrsubstanzen eine gewisse Verwandtschaft untereinander besitzen. Ein anderes Beispiel bietet nach Behrings neuesten Untersuchungen (8) der Tuberkelbacillus, dessen Menschenvarietät durch Ziegenpassagen eine Virulenzerhöhung nicht bloß für Ziegen, sondern auch für Rinder erfährt. Auf der anderen Seite müssen wir noch als Seitenstück zur Kaninchenpassage die ähnliche Wirkung des Mäusekörpers erwähnen, durch den, wie Prettner (9) nachgewiesen, der Schweinerotlaufbacillus in den für Schweine fast vollständig avirulenten, für Mäuse dagegen hochvirulenten Bacillus der Mäuseseptikämie umgewandelt wird.

Diese Erwägungen waren für mich in der praktischen Behandlung der Rotlaufserumfrage ausschlaggebend. Durch Pasteur's Untersuchungen wissen wir, daß eine Taubenpassage zu einer Erhöhung der Rotlaufbacillusvirulenz für Schweine führt. Da ich nun, dem obigen Ideengange entsprechend, annehmen konnte, daß das taubenwidrige Leukotoxin des Bacillus zugleich gegen den Schweineorganismus gerichtet ist, konnte ich mich mit Recht eines höchst taubenvirulenten Bacillus bedienen, um aus Pferden ein zur Heilung von Schweinen bestimmtes Serum zu erhalten. Ich ging dabei von der Hypothese aus, daß durch die sich bildende Gegensubstanz des Taubenleukotoxins auch die im Schweinekörper sich entwickelnden, für die Leukocyten toxischen Produkte des Rotlaufbacillus neutralisiert und hierdurch der kranke Organismus zur Verwertung seiner Zellen, wie auch all der ihm einverleibten Schutzstoffe befähigt wird.

Im Anschlusse an diesen Ideengang durfte ich natürlicherweise als Versuchstier für die experimentellen Schutztitrebestimmungen weder das Kaninchen noch die Maus wählen, sondern mich — da Schweine aus äußeren Gründen (hoher Preis, schwere Infizierbarkeit des hiesigen Landschlages) nicht benützt werden konnten — einzig und allein der Tauben bedienen, deren Verwendung zu diesem Zwecke schon Leclainche (3) im Jahre 1900 empfohlen hatte. Ohne die Theorie dieser Verhältnisse näher zu berücksichtigen, warnte er vor der Anwendung der Kaninchen und Mäuse als Titretiere: Kaninchen wären nach ihm dem chronischen Rotlauf allzusehr ausgesetzt, bei Mäusen hingegen spielt die außerordentlich wechselnde Sensibilität der einzelnen Tiere eine allzu störende Rolle.

Ueber Kaninchenversuche verfüge ich selbst nicht, dagegen versuchte ich es mit der Titrebestimmung an Mäusen öfters, und füge mich vollständig Leclainches Ansicht. Ob da die sehr hohe Mäusevirulenz meiner Kultur mitgewirkt hat (0,006 ccm töteten die weiße Maus in 2 Tagen, 0,10 ccm in $1^1/_2$—$1^3/_4$ Tagen, wo Leclainches Kultur in der Menge von 0,25 ccm bloß in $2^1/_2$—3 Tagen tödlich wirkte), Tatsache ist es, daß ich zwischen Mäuse- und Taubentitre kein beständiges Verhältnis nachzuweisen vermochte. In meinen Versuchen vom 4. März 1902 z. B. ließ das Gemisch von 0,5 ccm Kultur und 0,20 ccm Serum

die Taube am Leben, die Kontrolltaube verendete in 2 Tagen, wo das Gemisch von 0,25 ccm Kultur + 0,10 ccm Serum bei der Maus bloß ein Ueberleben mit $2^3/_4$ Tagen zur Folge hatte. Die Kontrollmaus verendete in $1^3/_4$ Tagen. Demnach war dasselbe Gemisch (5 ccm Kultur zu 2 ccm Serum) tödlich für die Maus, nicht dagegen für die Taube.

Ein anderer Fall. Am 19. März 1902 bleibt die Taube auf 0,5 ccm Kultur + 0,10 ccm Serum am Leben (Kontrolltier in $2^1/_2$ Tagen hin), dagegen war bei der Maus, die 0,01 ccm Kultur + 0,05 Serum, demnach ein 25mal günstigeres Gemisch, erhalten hat, ein Ueberleben des in $2^1/_2$ Tagen verendeten Kontrolltieres bloß mit $1^1/_2$ Tagen wahrzunehmen.

Meinerseits halte ich schon auf Grund der oben angeführten theoretischen Gründe die Methode, die an manchen Orten angewendet wird, d. i. die Benützung schwachvirulenter Backsteinblatternkulturen und die Anwendung von Mäusen als Versuchstiere, wobei untersucht wird, ob 0,01 ccm des Serums eine Maus vor 0,01 ccm der Kultur zu schützen vermag (Jess, Kompend. d. Bakterien. 1901. p. 64) für unstatthaft, und bin entschieden dafür, die Titrebestimmung bloß an Tauben vorzunehmen. Dies desto eher, als es bei Anwendung der gleich zu beschreibenden Kautelen bei Tauben nie zu irrationellen Ergebnissen kommt, wie solche bei der Maus nach Marx (10) durch die unregelmäßige Abgabe der Alexine resp. die tardive Komplettierung der Zwischenkörper verursacht werden, welchem Mangel der Autor bloß durch eine getrennte Injektion des Serums und 24 Stunden später der Kultur — welcher, wird nicht weiter präcisiert — nachhelfen konnte.

Die Titrierung ist eben keine einfache Arbeit: sie wird von allen jenen Faktoren beeinflußt, durch welche eine biologische Veränderung zweier lebender Organismen, der Taube und des Bacillus, hervorgerufen wird. Meine Erfahrungen, die ich an Hunderten von Tauben und 30—40 Titreserien gesammelt, wiesen mir viele Fehlerquellen nach, deren Nichtbeachtung zu irrationellen Ergebnissen führen kann. Die Kautelen, die innegehalten werden müssen, sind folgende.

1) Wählen der Tiere. Die benützten Tauben müssen gut ausgebildete und ernährte Tiere von 300—400 g Körpergewicht sein. Abgemagerte Tauben mit hervorstehendem Brustbein oder junge Tauben unter 300 g widerstehen der Infektion, wohl infolge ihrer für das Rotlaufgift größeren Zellenempfindlichkeit, viel weniger, und benötigen einer viel größeren Serummenge für ihren Schutz.

2) Wahl des Virus. Zu beachten sind $\alpha$) Qualität resp. Virulenz, $\beta$) Alter der Kultur, $\gamma$) Virusdosis. Durch alle 3 Momente wird die Wirkung des Rotlaufvirus beeinträchtigt, was am besten aus dem Verhalten der Kontrolltauben zu ersehen ist. Wenn nämlich bei Ermangeln von Titrepassagen die Titrekultur in ihrer Virulenz eine Einbuße erlitten, wenn ein Teil der Bacillen infolge Alters der Kultur abgestorben, endlich, wenn die Virusdosis zu karg bemessen wurde, entwickeln sich beim Kontrolltiere nicht die bekannten Symptome des innerhalb 2 Tagen tödlichen Taubenrotlaufes, vielmehr verenden die Tiere erst in 3—5 Tagen an einer mehr chronischen Krankheitsform. Bei der Sektion solcher Tauben finde ich im Blute bloß hie und da in den Leukocyten und auch im Blutplasma 1—2 Bacillen; die Diagnose der Rotlaufinfektion ist bloß durch das auffallende Verhalten der Leber und der Lunge zu stellen: man findet nämlich im Strichpräparate dieser Organe nach Gram-Färbung, manchmal auch mittels Lupe wahrnehmbare, riesige Massen

von Rotlaufbacillen. Unter Immersion lösen sich die Bacillenklumpen als intraendotheliale Anhäufungen von Bacillen auf, die wohl nach Abtötung der deutliche Degenerationsmerkmale aufweisenden Makrophagen zu wahren Infektionsherden sich entwickelten. Die Rolle der Leber als Bacillenfiltrierungsorgan ist für die Rotlaufinfektion der Taube schon seit langem bekannt, aber auf das in dieser Hinsicht noch viel charakteristischere Verhalten der Lunge als endothelialen Infektionsherd ist meines Wissens bisher nicht hingewiesen worden. Ich halte entschieden dafür, daß in Fällen protrahierter Infektion das Ende des Tieres hauptsächlich als Folge der mangelhaften baktericiden Tätigkeit der Makrophagen anzusehen sei, da man in Lungenpräparaten nicht in allen phagocytierten Bacillen Degenerationserscheinungen (mangelhafte Färbung nach Gram) nachzuweisen vermag, vielmehr deuten die neben den geborstenen degenerierten Endothelien sich befindenden, wohlerhaltenen, oft von einer negativen Kapsel umgebenen Bacillen auf ein Wiedererwachen der bacillären Lebensenergie hin.

Eine Virusmenge, die beim Kontrolltiere eine derartige chronische Infektion verursacht, ist für die Serumtitrierung nicht zu gebrauchen: denn das Verhältnis zwischen Tier und Virus ist hier so labil, daß schon durch kleine Mengen von Serum eine Schutzwirkung hervorgerufen wird. Zur Titrierung empfehle ich, sich stets einer 2—2 $^1/_4$ Tage tödlich wirkenden, absolut sicheren Virus zu bedienen, wobei ein Ueberleben des Tieres auf nichts anderes als den Serumschutz zu beziehen ist. Die vom richtigen Virus getöteten Tauben enthalten bei der Sektion sowohl im gelben eiterigen Exsudate des Brustmuskels als auch im Blute zahlreiche Bacillen, in der Leber und der Lunge findet man nicht viel mehr als im Blute, dagegen befinden sich Bacillen auffallend zahlreicher in der Wurzel der jüngsten Federn.

Um zu realen Titreergebnissen zu gelangen, ist demnach folgendes notwendig:

*α*) Man arbeite stets mit einem Passagevirus, das 4—5-wöchentlich frisch aus dem Taubenkörper herausgezüchtet wird. Nach 6 Wochen konstatierte ich nämlich stets eine beträchtliche Virulenzverminderung des Stammes (Tod der Tauben erst in 3 Tagen). In allen Fällen genügen 1—2 Passagen für unseren Zweck vollkommen.

*β*) Die Kultur darf nicht das Alter von 60 Stunden überschreiten; am besten sind 1 $^1/_2$—2 Tage alte Bouillonkulturen dienlich. Nachfolgend teile ich die Lebensdauer einer Anzahl von mit $^1/_2$ ccm von verschieden alten Kulturen behandelter Tauben mit.

| Alter der Kultur | Lebensdauer der Tauben in Tagen |
|---|---|
| 24 Stunden | 1 $^1/_2$ ¹), 2, 2 $^1/_4$, 2 $^1/_4$, 3 ²) |
| 36—48 „ | 1 $^1/_2$, 1 $^1/_2$, 1 $^1/_2$, 1 $^1/_2$, 1 $^1/_2$, 1 $^3/_4$, 2, 2, 2, 2 |
| 60 „ | 2 ¹), 2, 2 $^1/_4$ |
| 72 „ | 2 $^1/_2$, 3 $^1/_4$ |
| 84—96 „ | 3 ¹), 3, 3 $^1/_4$ |

*γ*) Als Dosis halte man sich an die Menge von 0,5 ccm des beschriebenen Virus.

3) Ausführung der Titrebestimmung. Wir messen je $^1/_2$ ccm von der Kultur in sterile Gläser ab, setzen abgestufte Mengen,

1) Virusmenge = 1 ccm. 2) Kein Passagevirus.

z. B. 0,05, 0,10, 0,25, 0,50, 1,0 ccm, von Serum zu, das behufs Alexinverlustes einige Tage lang am Eise konserviert wurde, vermengen die Gemische, warten 3—4 Minuten, damit die Bakterien den Schutzstoff wenigstens teilweise verankern können, und spritzen die Flüssigkeiten ausgewählten und bezeichneten Tauben in den Brustmuskel ein. Die Kontrolltaube erhält 0,5 ccm des Virus.

Das letztere Tier verendet in 2 Tagen und wird von den Serumtieren länger oder kürzer überlebt. Als Schutztitre bezeichne ich jene kleinste Serummenge, durch welche gerade ein Ueberleben der Tiere verursacht wird. Sera vom Titre 0,5 ccm nenne ich normal, da den Erfahrungen Leclainches gemäß ein solches Serum sowohl zu Heil- und Not-(Immunisierungs-) als auch zu gemischten Impfungen behufs Erzielung von Dauerschutz gegen den Schweinerotlauf angewendet werden kann. Ein Serum vom Titre „0,25 contra 0,5 Virus“ bezeichne ich als doppelt, vom Titre „0,10“ als 5-fach normal.

Als Beispiel bringe ich einen Auszug aus meinem Serumprotokolle.

Blutentnahme am 8. Februar 1902 aus 5 Pferden.

Titrierung der gemischten („egalisierten“) Sera am 12. Februar abends 6 Uhr. Virus = 0,5 ccm der 2 Tage alten Kultur. Mischungsdauer in den Gläsern = 4 Minuten.

1) Kontrolltier. Schwarz, Schwingenspitzen weiß, rechter Flügel bezeichnet. † in 40 Stunden, 14. Februar vormittags 10 Uhr. Sektion normal.

2) Schwarz, linker Flügel bezeichnet. Virus + 0,25 ccm Serum. † 20. Februar morgens nach $9^1/_2$ Tagen. Im Blute spärliche, in der Lunge und Leber viel Bacillen.

3) Grau, rechter Flügel bezeichnet. Virus + 0,5 ccm Serum. Bleibt am Leben.

4) Rötlich-weiß, linker Flügel bezeichnet. Virus + 1 ccm Serum. Bleibt am Leben.

Resultat: 0,5 ccm schützt sicher, 0,25 ccm schützt fast (chronischer Verlauf). Serum fast doppelt normal.

Anderes Beispiel.

Blutentnahme 23. Februar 1902. Titrierung 25. Februar. Alter der Kultur: 2 Tage. Virusmenge: 0,5 ccm. Egalisiertes Serum No. 8. Reaktionszeit: 4 Minuten. (Die Beschreibung der Tauben lasse ich weg.)

Viruskontrolle in 48 Stunden †
Virus 0,12 ccm Serum lebt
„ 0,25 „ „ „
„ 0,50 „ „ „

Resultat: Das Serum ist wenigstens 4-fach normal.

Aus dem früheren Beispiele ist ersichtlich, daß das Schicksal der injizierten Tauben u. f. 10 Tage lang zu verfolgen ist, denn bei dem Schutztitre nahen Serummengen kommt es nicht selten erst nach Ablauf einer Woche zu dem tödlichen Ende. Bloß in einem Falle sah ich die bei der Taube so seltene chronische Rotlaufkachexie, wobei das Tier, gänzlich abgemagert, 30 Tage nach der erfolgten Injektion zu Grunde ging; im Blute fanden sich bloß Keime sekundärer Infektion (Staphylokokken) und die Rotlaufdiagnose konnte bloß aus den, freilich höchst spärlichen, Lungenendothelherden gestellt werden. In der Titrepraxis aber ist die Entscheidung gewöhnlich innerhalb 4—5 Tagen getroffen, bloß die Grenztiere müssen 8—10 Tage lang beobachtet werden.

Ein jedes Serum, welches dem meiner bakteriologischen Leitung unterstehenden Institut Jenner-Pasteur abgegeben wird, ist mit einer Operationsnummer versehen, und wird das korrespondierende Protokoll im Archiv des Institutes aufgehoben. In den Verkehr gelangen bloß Sera von wenigstens normaler Schutzkraft („0,5 contra 0,5 ccm“) und werden diese normalen Sera für gemischte Impfungen

(bis zum 15. Oktober 1902 7828 Dosen), die hochwertigen dagegen zu Heil- und Notimpfungen (bis zum 15. Oktober 1902 8538 Dosen) verwendet.

Erwähnen will ich noch, wie man bei den mit 0,5 Proz. Phenol konservierten Sera verfahren muß. Obwohl der Rotlaufbacillus dieser Phenolmenge längere Zeit widersteht, stehe ich davon ab, die Mischungsmethode anzuwenden, da ja durch das Phenol das Verhältnis der Zellen zu den Bakterien an der Injektionsstelle eine unliebsame, weil unbekannte Aenderung erfährt. In diesem Falle ist es ratsamer, Virus und Serum an verschiedenen Stellen, aber gleichzeitig zu injizieren, z. B. das Serum in den einen, die Kultur in den anderen Brustmuskel. Diese Methode führt zu ungünstigeren Resultaten als die Mischungsmethode, was leicht verständlich ist, denn es muß ja eine geraume Zeit, etwa einige Stunden, dauern, bis die Schutzstoffe durch die Saftcirkulation in genügender Konzentration zu der Infektionsstelle gelangen. Meinen bisherigen Erfahrungen gemäß ist das Verhältnis der Schutztitres $1:1^1/_3$, d. h. bei getrennter Applikationsweise muß behufs Erlangung vollständigen Schutzes eine etwa $1^1/_3$mal größere Serummenge injiziert werden. Weitere Untersuchungen behalte ich mir über dieses Thema vor, um zugleich eine exakte Vergleichung meiner und der deutschen Sera wahrnehmen zu können; aus äußeren Gründen war mir die Durchführung dieser Untersuchung bisher nicht möglich. Zum Vergleiche können mir heute bloß Leclainches Daten dienen. Von seinem Virus tötet nämlich 1 ccm die Taube in $2^1/_2$—3, 1 ccm das Kaninchen in 5—6 Tagen, $^1/_4$ ccm die Maus in $2^1/_1$—3 Tagen: von meinem Virus tötet die Menge von $^1/_2$ ccm die Taube in $1^1/_2$—2, 5 ccm das Kaninchen in 3—4, 0,006 ccm die Maus in 2 Tagen. Die Virulenz meines Stammes ist unbedingt höher. Ich hoffe, daß das Budapester Serum, von dem 0,25—0,50 ccm diese Titre-Virusmenge sicher zu neutralisieren vermag, ja deren manche Operationsnummern den Schutztitre von 0,10 ccm überschreiten, sich in der Praxis als den französischen und deutschen Sera weiterhin gleichwertig erweisen wird, wie es im verflossenen Jahre fast durchweg in Ungarn und Oesterreich mit vollem Erfolge zur Anwendung gelangen konnte.

Budapest, den 15. Oktober 1902.

---

**Litteratur.**

1) Deutsch, L., Wiener med. Presse. 1899. — Annales de l'Inst. Pasteur. 1899.
2) Castellani, Zeitschrift für Hygiene. 1901.
3) Leclainche, La sérothérapie du rouget des porcs. Toulouse 1900.
4) Gengou, Annales de l'Inst. Pasteur. 1901.
5) Bordet et Gengou, Annales de l'Inst. Pasteur. 1901.
6) Cantacuzène, Recherches sur le mode de destruction du vibrion chol. dans l'organisme. Paris 1894.
7) Pfeiffer u. Friedberger, Berl. klin. Wochenschr. 1902.
8) Behring, Beiträge zur exp. Ther. Tuberkulose. 1902.
9) Prettner, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1902.
10) Marx, Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1901.

# Wertbestimmung von Geflügelcholeraserum.

[Aus dem bakteriologischen Institute von Dr. Piorkowski.]

Von Dr. **Fred Henry Mosler** aus New York.

Die erste Beschreibung der Geflügelcholerabacillen stammt von Perroncito aus dem Jahre 1879 und ist späterhin von Pasteur u. A. ergänzt und weiter ausgeführt worden. Namentlich Pasteur hat es sich angelegen sein lassen, die Geflügelseptikämie eingehend zu studieren als eines der dankbarsten Objekte für das bakteriologische Studium. Mit solchem Materiale hat er 1880 seine ersten Immunisierungsversuche angestellt, die allerdings ohne Erfolg geblieben sind. Zunächst verwendete er Kulturen, deren Virulenz er durch 6—10 Monate langes Stehenlassen unter Luftzutritt zu mitigieren versucht hatte, später machte er die wichtige Entdeckung, daß die filtrierten Bakterienkulturen lösliche giftige Stoffwechselprodukte erzeugten, die bei Hühnern die charakteristischen Krankheitssymptome, nämlich eine mehrstündige Schlafsucht und Taumelbewegungen, auslösten, ohne die Hühner zu töten. Diesbezügliche Immunisierungsversuche mißlangen gleichfalls. Die Infektion geschieht zumeist dadurch, daß die Tiere die an Bakterien sehr reichen Exkremente der verendeten mit der Nahrung zugleich aufnehmen und sie so in den Darmkanal bringen.

Nach dem Tode können die Bacillen in allen Organen nachgewiesen werden. Sie sind derart virulent, daß ein einziger von ihnen, in irgend eine kleine Rißwunde gebracht, in 12—48 Stunden das befallene Tier zu Grunde richten kann. Ja, es ist sogar erwiesen, daß die von kranken Hühnern gelegten Eier den Ansteckungsstoff beherbergen.

Seziert man ein Tier, dann findet man regelmäßig Nekrose an der Impfstelle, Pericarditis exsudativa und Enteritis haemorrhagica.

Einer Anregung des Herrn Dr. Piorkowski Folge gebend, unternahm ich eine Anzahl von Versuchen zur Wertbestimmung eines Geflügelcholeraserums, welches derselbe mit Dr. Jess seit 1 Jahre herstellt und das bereits in die Praxis eingeführt ist. Das Serum, welches ich für meine Zwecke verwendete, war gerade 1 Jahr alt und seitdem durch Zusatz von $^1/_2$-proz. Karbolsäure konserviert worden. Es handelte sich darum, zu konstatieren, ob der Schutz- und Heilwert des Antiserums während dieser Zeit Veränderungen erfahren hatte, d. h. ob er vielleicht geschwächt war und nicht mehr den gewünschten Erfolg aufweisen konnte.

Zuvor möchte ich noch erwähnen, daß das Serum nach den Angaben der Verfertiger von großen Haustieren gewonnen wird, welchen das Infektionsmaterial in allmählich gesteigerten Dosen einverleibt wurde. Letzteres wird durch geeignete Züchtung, ohne das Toxin und die Virulenz unkontrollierbar zu ändern, hergestellt und löst nach jeder erneuten Injektion bei den Versuchstieren Reaktionen aus. Es wird damit so lange fortgefahren, bis vorgenommene Versuche einen bestimmten hohen Schutzwert erkennen lassen. Gleichzeitig mit dem Immunserum wird ein Normalserum verabreicht, welches nach den bekannten Ehrlich'schen Theorieen, die von Wassermann zum Teil experimentell ergänzt sind, dazu dienen soll, die Widerstandskraft eines erkrankten Körpers zu erhöhen und selbst solche Fälle zu heilen, in denen bereits

eine ziemlich starke Ueberschwemmung des Geflügels mit den Krankheitserregern stattgefunden hat. Als Gebrauchsanweisung wird vorgeschrieben, daß Tauben $^{1}/_{2}$ ccm Immunserum und 1 ccm Normalserum, Hühner die doppelte Portion, Enten 2 ccm Immunserum und 4 ccm Normalserum und Gänse 3—4 resp. 6—8 ccm Serum subkutan injiziert erhalten sollen.

Um nun meine Versuche auszuführen, ging ich folgendermaßen vor: Zunächst mußte ich den Virulenzgrad eines Geflügelcholerastammes bestimmen, welcher zum Ausgangspunkt für alle Untersuchungen dienen konnte. Im Piorkowski'schen Laboratorium war eine Stammkultur vorhanden, welche 4 Wochen vor der Inangriffnahme meiner Arbeit aus dem Herzblute eines während einer Epidemie gefallenen Huhnes, das, zur Untersuchung ins Laboratorium gesandt war, durch Isolierung mittels Agarplatten gewonnen war.

Ich prüfte diesen Stamm, indem ich mir eine 24-stündige Bouillonkultur herstellte und davon 1 Oese, $^{1}/_{2}$, $^{1}/_{4}$ und $^{1}/_{8}$ Oese weißen Mäusen subkutan beibrachte. Ich möchte gleich hier bemerken, daß ich ein für allemal derartig vorging, daß weißen Mäusen, deren Gewicht gewöhnlich zwischen 18—22 g schwankte, das Material mittels einer durch 10 Minuten langes Kochen in 1-proz. Sodalösung sterilisierten Spritze unter streng aseptischen Kautelen unter die Haut gespritzt wurde, nachdem letztere durch Rasieren eines Teils oberhalb der Schwanzwurzel und durch Waschen mit 1-promill. Sublimatlösung gründlich gereinigt worden war. Die Oesen der Kulturen wurden mittels steriler Nährbouillon verdünnt und bis zu $^{1}/_{2}$ ccm aufgefüllt. Nachdem die tödliche Dosis festgestellt war, wurde dieselbe im Laufe der Untersuchungen öfters nachgeprüft. Kulturen wurden täglich frisch angelegt.

Aus der nachfolgenden Tabelle I ist ersichtlich, daß diese Dosen nicht genügt hatten, die Mäuse zu töten.

Tabelle I.

| Oktober 1902 | I. | II. | III. | IV. |
|---|---|---|---|---|
| 6. | 1 Oese | $^{1}/_{2}$ Oese | $^{1}/_{4}$ Oese | $^{1}/_{8}$ Oese d. 24-stünd. Bouillonkultur |
| 7. | gesund | gesund | gesund | gesund |
| 8. | „ | „ | „ | „ |

Da die Mäuse keine Reaktionen gezeigt hatten, wurden mit neuen Mäusen die Versuche mit größeren Dosen wiederholt (siehe nächste Tabelle II).

Tabelle II.

| Oktober 1902 | V. | VI. | VII. |
|---|---|---|---|
| 8. | 1 Oese | 5 Oesen | 10 Oesen einer 24-stündigen Bouillonkultur |
| 9. | gesund | † in 24 Stunden | † in 12 Stunden |
| 10. | „ | — | — |

Hiernach wirkten also 10 Oesen bereits in 12 Stunden, 5 Oesen in 34 Stunden tödlich. Die Maus, welche 1 Oese erhalten hatte, blieb gesund und war es noch nach 4 Wochen.

Nachdem ich dieses Resultat erhalten hatte, blieb die Frage nach der engeren Begrenzung der Virulenz offen, und ich mußte also einigen Mäusen die Kultur in kurz aufeinander folgenden Dosen einbringen. Das geschah, wie in Tabelle III zu ersehen ist.

Tabelle III.

| Oktober 1902 | VIII. | IX. |
|---|---|---|
| 10. | 2 Oesen | 3 Kulturösen |
| 11. | † in 30 Stunden | † in 24 Stunden |

Die Virulenz war also derartig, daß bereits 2 Oesen zum Exitus letalis geführt hatten, und zwar innerhalb von 30 Stunden, während 3 Oesen bereits nach 24 Stunden den Tod brachten; in derselben Zeit, als nach Tabelle II 5 Oesen gewirkt hatten. Ich konnte also in Zukunft mit 2 oder 3 Oesen operieren.

Nunmehr konnte ich dazu übergehen, festzustellen, wie viel des, wie bereits erwähnt, 1 Jahr alten, Immunserums, notwendig war, um die tödliche Wirkung der Kultur aufzuheben resp. ob das Serum überhaupt einen Einfluß ausübte. Hieran schloß sich die weitere Aufgabe, zu prüfen, wie lange die Mäuse nach der Injektion des Serums immun blieben.

Diesem Zwecke dienten 4 Mäuse, die sämtlich gleichzeitig je 1 Tropfen Antiserum erhielten, 2 von ihnen wurden unmittelbar darauf, 2 resp. 3 Oesen des virulenten Materials appliziert, den anderen beiden erst nach Verlauf von 24 Stunden dieselben Gewichtsmengen, wie aus Tabelle IV ersichtlich.

Tabelle IV.

| Oktober 1902 | X. | XI. | XII. | XIII. |
|---|---|---|---|---|
| 11. | Antiser. 1 Tropf. sofort, 2 Oesen Kultur | Antiser. 1 Tropf. sofort 3 Oesen Kultur | Antiser. 1 Tropf. nach 24 Stdn. | Antiser. 1 Tropf. nach 24 Stdn. |
| 12. | gesund | gesund | Kultur 2 Oesen | Kultur 3 Oesen |
| heute | „ | „ | gesund | gesund |

Die Mäuse reagierten zunächst leicht, wenn sie die Kultur erhielten, und saßen mit halbgeschlossenen Augen da, erholten sich aber binnen 2—3 Stunden bis zu ihrer ehemaligen normalen Art. Wir sehen also, daß 1 Tropfen des Serums genügte, um die Mäuse 24 Stunden lang und darüber gegen die einfache wie doppelte Dosis der virulenten Kultur zu schützen.

Es mußte nun aber geprüft werden, ob 1 Tropfen des Immunserums die minimale Gabe für die augenfällige Abtötung der Bakterien innerhalb des Mäusekörpers vorstellte oder ob derselbe Effekt mit noch geringeren Mengen zu erreichen war.

Darum wurden weitere 4 Mäuse mit $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_{10}$ und $^1/_{20}$ Tropfen Serum behandelt. Die Zusammenstellung findet sich in Tabelle V.

Tabelle V.

| Oktober 1902 | XIV. | XV. | XVI. | XVII. |
|---|---|---|---|---|
| 13. | Antiser. $^1/_2$ Tropf. sofort, 2 Oesen Kultur | Antiser. $^1/_4$ Tropf. sofort 2 Oesen Kultur | Antiser. $^1/_{10}$ Tr. sofort, 2 Oesen Kultur | Antiser. $^1/_{20}$ Tr. sofort, 2 Oesen Kultur |
| 14. | † nach 24 Stdn. | † nach 24 Stdn. | † nach 24 Stdn. | † nach 24 Stdn. |

Danach waren also sämtliche Mäuse innerhalb 24 Stunden zu Grunde gegangen und es ergiebt sich hieraus, daß erst 1 Tropfen Immunserum imstande war, Mäuse zu immunisieren, welche 24 Stunden später 2—3 Oesen virulenter Kultur erhielten.

Wenn nun die Mäuse noch nach 24 Stunden ihrer Immunisierung vollkommen unempfänglich waren gegen die tödliche Dosis der Geflügelcholerabacillen, waren sie es auch noch nach 48, 72 und mehr Stunden? Der Erledigung dieser Frage diente der in Tabelle VI ausgedrückte Versuch.

Tabelle VI.

| Oktober 1902 | XVIII. | XIX. |
|---|---|---|
| 14. | Antiserum 1 Tropfen nach | Antiserum 1 Tropfen nach |
| 16. | 48 Stdn., Kultur 2 Oesen | — |
| 17. | † | Versuch fiel aus |

Die erste Maus starb bereits innerhalb des nächsten Tages, es erübrigte sich also der Versuch No. 19. Die Dosis von 1 Tropfen Immunserum konnte eine Maus, wenn sie 48 Stunden später infiziert wurde, nicht mehr retten. Es galt daher, zu sehen, wie viel Serum hierzu erforderlich war. Hierüber belehrt uns Tabelle VII.

Tabelle VII.

| Oktober 1902 | XX. | XXI. |
|---|---|---|
| 17. | Antiserum 2 Tropfen nach | Antiserum 3 Tropfen nach |
| 20. | 72 Stdn., Kultur 2 Oesen | 72 Stdn., Kultur 2 Oesen |
| 26. | gesund | gesund |

Es genügten demnach bereits 2 Tropfen Serum, um die Mäuse noch längere Zeit, wie überhaupt refraktär zu erhalten, denn diese beiden Mäuse, wie auch alle die in Frage kommenden, leben heute noch, d. h. nach 3 Wochen. Wir resumieren hier, daß 2 Oesen Immunserum ausreichend sind, um Mäuse für längere Zeit gegen die letale Dosis Geflügelcholerabacillen zu schützen.

Ich habe schon eingangs erwähnt, daß nach der Gebrauchsanweisung neben dem Immunserum gleichzeitig Normalserum abgegeben wird, und es drängt sich darum die Frage auf, ob das Normalserum einen günstigen Einfluß geltend zu machen imstande ist. Es wäre vielleicht weniger Immunserum erforderlich, wenn es in Gemeinschaft mit dem Normalserum verabreicht wird. 1 Tropfen Serum hatte nicht ausgereicht, um Mäuse nach 48 Stunden später erfolgter Invasion mit Bacillen zu schützen; wie aber stellt sich das Ergebnis bei gleichzeitiger Gabe von Normalserum und wie bei vergrößerten Dosen? Tabelle VIII erläutert diesen Versuch.

Tabelle VIII.

| Oktober 1902 | XXII. | XXIII. | XXIV. |
|---|---|---|---|
| 21. | Antiserum 1 Tropfen, Normalserum 2 Tropf. nach | Antiserum 2 Tropfen, Normalserum 4 Tropf. | Antiserum 3 Tropfen, Normalserum 6 Tropf. |
| 23. | 48 Stunden, 2 Oesen Kultur | nach | nach |
| 24. | gesund | 72 Stunden, 2 Oesen Kultur | 72 Stunden, 2 Oesen Kultur |
| heute | „ | gesund | gesund |

Es hatte, wie aus obiger Tabelle ersichtlich ist, eine Gabe von 2 Tropfen Normalserum (Maus No. 22) genügt, um das Tier am Leben

zu erhalten, während ohne Normalserum eine gleich starke Maus der Infektion erlegen war. Es muß also die Komplementzufuhr das ihrige zur Verstärkung des Immunserums beigetragen haben.

Es blieb noch die Frage zu erledigen, wie lange Zeit nach der Infektion, nach der Einverleibung der aviciden Bakterien verstreichen konnte, um die paralysierenden Eigenschaften des Antiserums in Wirkung treten zu lassen. 5 Mäuse dienten diesem Versuche, der in Tabelle IX seine Erledigung findet.

Tabelle IX.

| Oktober 1902 | XXV. | XXVI. | XXVII. | XXVIII. | XXIX. |
|---|---|---|---|---|---|
| 11. | 2 Oesen Kultur, nach 4 Stdn. Antiserum 1 Tr. | 2 Oesen Kultur, nach 1 Stde. Antiserum 1 Tr. | 2 Oesen Kultur, nach 6 Stdn. Antiserum 1 Tr. | 2 Oesen Kultur nach | 2 Oesen Kultur nach |
| 12. | gesund | gesund | gesund | 24 Stdn., Antiserum 4—5 Tr. Im Coma gestorben | 24 Stdn., Antiserum 4—5 Tr. Im Coma gestorben |
| 13. | gesund | gesund | gesund | — | — |

Bis 6 Stunden nach der Infektion wirkte das nachträglich eingespritzte Serum noch lebenerhaltend. Die Mäuse No. 28 und 29 aber befanden sich, als ich sie am frühen Morgen auffand, bereits in so desolater Verfassung, daß es von vornherein aussichtslos schien, sie noch retten zu können. Sie befanden sich bereits im Coma, die Atmung war verlangsamt und schwer, die Ohren waren durchscheinend weiß und blutleer, die Augen geschlossen, der Körper zusammengekrampft, die Extremitäten gestreckt und alle Versuche, durch Geräusch und Berührung Reaktionen auszulösen, blieben erfolglos. — Namentlich Maus No. 29 schien dem Tode nahe zu sein. Um aber selbst in soweit vorgeschrittenem Zustande noch die Wirkung des Mittels auszuprobieren, brachte ich den beiden Mäusen 4 und 5 Tropfen Antiserum bei. Ich glaubte, daß diese Dosis nun freilich nur noch den Tod beschleunigen müßte, und das war allerdings bei Maus No. 29 der Fall, wenigstens blieb sie unter der Spritze — gänzlich verschieden aber verhielt sich Maus No. 28. In weniger als 3 Minuten nach der subkutanen Injektion, nachdem sie in einen warmen Raum gebracht war, begann sie schneller mit anscheinend weniger Anstrengung zu atmen, der Puls ging rapider, die Ohren begannen sich, im Gegensatze zu ihrem vorigen Aussehen, leicht zu röten und die Augenlider hoben sich, nur die Cornea schien getrübt. — Nach weiteren 10 Minuten fing sie an, sich langsam und schwer fortzubewegen um den inneren Teil des Gefäßes herum, in dem sie sich befand. — So vergingen 45 Minuten — nun aber verschwanden wieder all die günstigen Symptome und das Tierchen verfiel wieder in einen comaartigen Zustand, der nach 8 Minuten mit dem Tode endete. Immerhin beweist dieser Umstand, wie außerordentlich kräftig das Serum selbst in den letzten Stadien der Krankheit einwirken kann.

Es scheint demnach, daß die Bakterien sich im Tierkörper außerordentlich rasch vermehren und denselben derartig überschwemmen, daß nur bis nach etwa 6—8 Stunden mit Aussicht auf Erfolg eine Seruminjektion bei Mäusen vorgenommen werden kann. Schon nach 10 Stunden sind die Aussichten ungünstige, wie die nachfolgende Tabelle zeigt, die 2 nach dieser Richtung hin vorgenommene Experimente darstellt.

Tabelle X.

| Oktober 1902 | XXX. | XXXI. |
|---|---|---|
| 16. | Kultur 2 Oesen, nach 10 Stdn. Antiserum 1 Tropf. | Kultur 2 Oesen, nach 16 Stdn. Antiserum 1 Tropf. |
| 17. | † | † |

Wenn ich mich nach diesen hier vorgeführten Versuchen, die nur eine vorläufige, orientierende Experimentalreihe skizzieren [1]) sollen, kurz resumiere, so ergiebt sich, daß bei Anwendung einer Geflügelcholerakultur, die so virulent ist, daß 2 Oesen bei einer Maus von 20 Gewicht die letale Dosis innerhalb von 24 Stunden vorstellt, mit dem Antiserum Jess-Piorkowski sicher sowohl prophylaktisch wie heilend Erfolge erzielen lassen, selbst wenn dasselbe bereits über 1 Jahr alt ist. Die Dosis für Immunisierungszwecke gegen 2--3 Oesen der virulenten Kultur beträgt innerhalb von 24 Stunden 1 Tropfen, binnen 72 Stunden 2 Tropfen Antiserum; verstärkt man jedoch das Immunserum durch Zugabe von Normalserum, dann ist bereits 1 Tropfen des ersteren ausreichend zur Immunisierung.

Es erhellt endlich, daß die Seruminjektion so frühzeitig wie nur irgend möglich vorgenommen werden muß und daß es unter allen Umständen indiziert ist, in einem Geflügelbestande oder bei Transporten etc. sofort prophylaktisch vorzugehen, sobald sich die ersten Anzeichen einer Epidemie bemerklich machen. Zum Schluß möchte ich noch Herrn Dr. Piorkowski meinen Dank ausdrücken für die Anregung zu dieser Arbeit und seine liebenswürdige Unterstützung während derselben.

---



# Beitrag zur Bekämpfung der Anopheles.

Von Dr. **D. Rivas** aus Nicaragua, C.-A.

Seit der neuen Entdeckung, daß die *Anopheles* die menschliche Malaria übertragen, ist es leicht begreiflich, eine wie große Rolle die Vernichtung der Mücken als Prophylaxis der Malaria spielen muß. In dieser Richtung sind zwar schon verschiedene Versuche gemacht worden, doch nicht mit genügender Energie durchgeführt; ich möchte daher hier eine praktisch erprobte Methode wiedergeben.

Zum Zwecke der Bekämpfung der Entwickelung der Mücken wurden mit Eiern, Larven und Puppen nachfolgende Versuche angestellt:

Von zwei mit Wasser gefüllten Gläsern wurden in ein Glas einige Tropfen Petroleum und in das andere einige Tropfen dickflüssigen Maschinenöles gegossen, und nachdem in beiden Gläsern das Oel mittels eines Stiftes gleichmäßig an der Oberfläche verteilt war, wurden in beide Gefäße in stehenden Gewässern gefundene Gelseneier gethan. In dem Gefäße mit der Petroleumoberschicht konnte man beobachten, daß am 2. und besonders am 3. Tage viele Eier zu Boden sanken, am 3. Tage sah man, daß sich — wahrscheinlich infolge der Verdampfung

---

1) Weitere ausführliche Untersuchungspublikationen, insbesondere solche über längere Zeit ausgeführte Immunisierungsversuche, bei denen sowohl mit frischen wie mit älteren Serumarten behandelt ist, sollen späterhin erfolgen.

des Petroleums — einige Eier zu Larven entwickelt hatten; diese gelangten aber selbst bei günstigen Temperaturverhältnissen zu keiner vollkommenen Entwickelung und gingen binnen kurzer Zeit zu Grunde.

In dem Gefäße mit der Maschinenöloberschicht entwickelten sich die Eier zu Larven, ganz so wie in gewöhnlichem Wasser, starben aber auch nach einigen Tagen ab.

Nun wurde ein neuer ähnlicher Versuch mit Larven angestellt. Aus einem Sumpfe, in welchem viele Larven lebten, wurden wieder zwei Gefäße gefüllt und wie bei dem ersten Versuche der Inhalt des einen Gefäßes mit wenig Petroleum, der andere mit Maschinenöl versetzt. In dem mit Petroleum versetzten Gefäße wurden die Larven gleich sehr unruhig und, sobald sie mit dem Petroleum in Berührung kamen, schnellten sie von der Oberfläche herab. Nach kurzer Zeit wurden sie matt, bis sie nach etwa 5 Minuten zu Boden sanken und unbeweglich blieben. Nach und nach fielen immer mehr und mehr herunter, bis nach einer halben Stunde kaum einige Larven zu bemerken waren. Zu dieser Zeit begannen sie zu sterben, nach 1 Stunde war alles ruhig, nach 2 Stunden war sicher alles tot.

In dem Gefäße mit dem Maschinenöle nahm die Sache einen anderen Verlauf. Zuerst wurden die Larven etwas unruhig, bald aber erholten sie sich und benahmen sich wie im gewöhnlichen Wasser; nach 2 Stunden fingen sie an zu Boden zu fallen und starben sehr langsam ab. Erst nach 5 Tagen waren alle Larven tot.

Mit den Puppen verhält es sich ähnlich. Unter Petroleum starben sie nach 1 Stunde, hingegen schienen sie gegen das Maschinenöl wenig empfindlich gewesen zu sein. Erst am 2. oder 3. Tage sind einige tot. Am 4. Tage entwickeln sich einige zu Mücken, welche jedoch am Oele kleben blieben, bis am 5. Tage alle Puppen tot sind. Diese Versuche wurden noch weiter geführt und eine Menge von reifen Puppen, kurz ehe sie Mücken werden wollten, in verschiedene kleine Gefäße gebracht, in einige Petroleum, in die anderen Maschinenöl gegossen, und dabei wurde beobachtet, daß die meisten reifen Puppen unter Petroleum gleich starben, die wenigen, welche zu Mücken wurden, sich gleich fingen, während unter Maschinenöl alle Mücken wurden, von denen einige, welche sich nicht fingen, davon flogen.

Ferner machte ich einen Versuch, indem ich 2 Töpfe wie oben mit Petroleum und Oel füllte. Hierauf stellte ich beide in einen Käfig, worin sich Mücken befanden, und beobachtete, daß sich am nächsten Tage viele Mücken im Wasser mit Petroleum fingen, während sie im Gefäße mit der Oelschicht, ebensowenig wie in dem Topfe mit gewöhnlichem Wasser, welcher zur Kontrolle dabei stand, gefangen wurden.

Im Freien wurden dieselben Versuche im großen angestellt, wie hier im kleinen beschrieben wurde, und es ergaben sich dieselben Resultate. Am nächsten Morgen fand sich die ganze Oberfläche bei Maschinenöl mit Eiern, bei Petroleum mit festgeklebten, mit Eiern gefüllten Mücken bedeckt.

Da es im Freien vorkommt, daß der Wind das in das Wasser gegossene Petroleum von einer Seite auf die andere treibt, und es so bewirken könnte, daß der Kontakt der Larven mit dem Petroleum zu kurz wäre, um für die Larven totbringend zu sein, so ist in dieser Richtung folgende Erfahrung gemacht worden: In ein Gefäß mit Auslaufsrohr, in dem sich viele Larven befanden, wurden einige Tropfen Petroleum gegossen und nach 5—10 Minuten das Auslaufsrohr, welches in ein

anderes, mit gleichem Wasser gefülltes Gefäß mündet, geöffnet, wodurch die meisten Larven in das reine Wasser überflossen. Dabei beobachtete man, daß die Larven in derselben Zeit zu Grunde gingen wie vorher, obgleich in diesem zweiten Gefäße kein Petroleum war. Es scheint demnach, daß das Petroleum auf die Larven giftig wirkt, und behaupte ich, daß allein der Kontakt mit dem Petroleum genügt, um die Larven sicher zu töten. Mit dem Maschinenöle verhielt es sich jedoch anders, denn die Larven lebten weiter.

Alle diese Versuche sind sowohl mit *Anopheles* wie mit *Culex* gemacht worden und sind beide gleich empfindlich dagegen gewesen. Ich habe bei diesen Versuchen gleichzeitig Petroleum wie Maschinenöl benutzt, da letzteres dickflüssiger als Petroleum ist, welches ziemlich schnell (4—5 Tage) verdampft, und glaubte so ein besseres Mittel in Verwendung nehmen zu sollen. Die Erfahrung aber lehrte, daß bei Verwendung von Maschinenöl dieses durch den Wind in irgend eine Ecke an der Wasseroberfläche zusammengetrieben wurde, während der übrige Teil der Oberfläche des Tümpels ganz frei bleibt und den Larven so Leben und Weiterentwickelung gestattet ist. Petroleum dagegen wirkt schnell und sicher. Maschinenöl tötet die Larven erst nach einigen Tagen, Petroleum in höchstens 10 Minuten, ein Zeitraum, in welchem äußere Einflüsse, wie der Wind, die Wirkung nicht behindern.

Eine ganze Reihe anderer chemischer Substanzen sind auch für diesen Zweck versucht worden, welche aber nicht zu empfehlen sind, da sie entweder giftig sind oder das Wasser färben.

Zur Bekämpfung der Eier, Larven und Puppen, nicht minder als Gelsenfänger selbst, habe ich in Brioni nur Petroleum bei allen freien Pfützen, Lachen, Cisternen, Teichsümpfen, Kanälen u. s. w. angewendet, und zwar ist dieses regelmäßig jede Woche während des ganzen Sommers hinzugegossen worden. — In Cisternen, wo das Wasser als Trinkwasser verwendet wird, ist es am besten, diese gut verschlossen zu halten und dadurch den Zutritt von eierlegenden Mücken zu verhindern.

Um sich nun selbst und seine Räume vor den Stichen der mit Malaria geschwängerten Mücken zu schützen, wurde vielfach das Räuchern der Räume und Netze vor Thüren und Fenstern angewendet. Das Räuchern ist aber sehr umständlich und für die Mücken nicht sicher totbringend; das tägliche Abfangen finde ich, wenn auch nicht genügend, so doch praktischer.

Thür und Fenster mit feinen Drahtnetzen zu versehen, ist ungenügend, Bettnetze dagegen sind sehr empfehlenswert. Die größte Mühe sollte man sich geben, die Malariakranken, soweit man sie nicht überhaupt isolieren kann, mit Bettnetzen und allen nur möglichen Vorsichtsmaßregeln vor dem Stiche der Mücken zu schützen — besonders auch die mit Gameten im Blute behafteten, bei welchen die Chininbehandlung wirkungslos bleibt — damit nicht die nun das Malariagift enthaltenden Mücken dasselbe weiter verschleppen und mit ihrem Stiche Gesunde infizieren.

Als am praktischsten und sichersten finde ich die Vernichtung der Mücken in ihrem Eier- und Larvenstadium, wo man dieselben sozusagen beisammen hat, wogegen dieselben als Mücken überall verstreut nicht zu finden oder zu fassen sind. Dieses Prinzip wurde in diesem Sommer (1902) von mir in Brioni streng durchgeführt. Das Resultat war ausgezeichnet; während im Jahre 1901 6—15 *Anopheles* täglich gefangen

wurden, wurden in diesem Sommer 60 Mücken im ganzen gefangen, von denen 40 ♂ und 20 ♀ waren.

Dieses so günstige Resultat bezüglich der Bekämpfung der *Anopheles* ist in Brioni (Istrien) auf einer Insel erzielt, was die Vernichtung erleichtert. Auf dem Festlande könnte man vielleicht nicht mit solchem guten Erfolge dieses ausführen, doch sehe ich keinen Grund, warum man nicht, wo es auch sei, sein möglichstes thun sollte, um in einem Malariaort die *Anopheles* so viel wie möglich zu vernichten, da dadurch die Anzahl derselben verringert und somit der Verbreitungsgefahr der Krankheit deutlich Einhalt gethan wird.

---



# Zur Aktinomycesfärbung in Schnitten.

Technische Notiz.

Von Prof. **Stanislaw Ciechanowski,**
I. Assistent am pathol.-anat. Institute in Krakau.

Bekanntlich lassen die meisten Aktinomycesfärbungsmethoden in Schnitten öfter im Stich oder geben kein genaues Bild der Struktur des Strahlenpilzes. Aus dem Grunde schlage ich noch ein Verfahren vor, welches mir gute Resultate lieferte und empfehlenswert erscheint. Die einzelnen Teile dieses Verfahrens enthalten zwar nichts wesentlich neues, auch ist möglicherweise eine ähnliche Methode schon von jemandem erprobt worden; da ich aber die Methode in der von mir erprobten Zusammenstellung weder in den mir zugänglichen Einzelarbeiten, noch in den bekannteren Handbüchern fand (auch in der von Ehrlich, Krause, Mosse, Rosin und Weigert herausgegebenen „Encyklopädie der mikroskopischen Technik“, Urban & Schwarzenberg, Berlin-Wien 1903, Klingmüllers Art. „Aktinomykose“, 1. Teil. p. 7 nicht), so glaube ich, daß die Veröffentlichung der vorliegenden Notiz einigen Nutzen bringen dürfte.

Ich verfahre folgendermaßen:

1) Formalinhärtung.
2) Celloidineinbettung.
3) Die Schnitte werden im Uhrschälchen in einer 3—4mal verdünnten, frisch nach den üblichen Vorschriften hergestellten Koch schen Anilinwassergentianaviolettlösung über einer kleinen Flamme so lange erwärmt, bis die Dämpfe aufsteigen.
4) Abspülen in 0,6-proz. Kochsalzlösung.
5) Die Schnitte werden auf einem Spatel in eine wässerige Jodjodkaliumlösung 1 : 2 : 300 übertragen, in welcher sie (auf dem Spatel) mindestens eine Minute verbleiben.
6) Vorsichtiges Abtrocknen mittelst Fließpapier.
7) Abspülen in 70-proz. Alkohol.
8) Erwärmung im Uhrschälchen über einer kleinen Flamme bis zu Dämpfeaufsteigen in einer Lösung:

| | |
|---|---|
| Orceïn | 1,0 |
| Salzsäure | 1,0 |
| Destill. Wasser | 100,0 |

9) Differenzierung in:
   Salzsäure 1,0
   Alkohol 96-proz. 200,0
   Destill. Wasser 50,0
10) Absoluter Alkohol, in welchem die Schnitte nur so lange verbleiben, bis die Aktinomycesdrusen als dunkelblau gefärbte Punkte auf dem roten Hintergrunde des Gewebes scharf hervortreten.
11) Aufhellung in Xylol.
12) Canadabalsam.
   Centrales Fadengerüst blau, Peripherie (Keulen, soweit vorhanden) rotviolett, Kerne dunkelrotbraun.

---



# Zur Gonokokkenfärbung.

Von **Arthur von Wahl,**
Assistenten am kais. klin. Institute der Großfürstin Helene Pawlowna, St. Petersburg.

Seit ca. 5 Jahren mit Gonokokkenuntersuchungen beschäftigt, lag es mir daran, eine Farblösung zu besitzen, die folgenden drei Punkten entspräche. Erstens mußte sie haltbar sein, zweitens die Gonokokken in eine dunkle, die Sekretbestandteile in eine andere, helle Farbe färben, damit das Aufsuchen derselben keine Schwierigkeiten bereite, und schließlich mußte die Färbung rasch vor sich gehen, damit ihre Anwendung in der Sprechstunde möglich sei.

Es gelang mir, in einer Auramin-Thioninlösung das Gewünschte zu erreichen, und habe ich vor einem Jahre über dieselbe Mitteilung in der St. Petersburger syphilidologischen Gesellschaft gemacht[1]). Schon damals erwähnte ich, daß ein Zusatz von Methylgrün von Vorteil sei. Nunmehr benutzte ich ausschließlich diese Modifikation und erlaube mir in Anbetracht der guten Resultate, die ich stets erhalten habe, dieselbe an die Oeffentlichkeit zu bringen.

Der Grundton der mit dieser Mischung (in 5—15 Sekunden) gefärbten Präparate ist hellgrün und die Gonokokken rötlich-violett bis schwarz, wodurch ein überaus leichtes Auffinden derselben ermöglicht ist und das Durchsehen eines Präparates höchstens 5—10 Minuten in Anspruch nimmt.

Die Kerne der Leukocyten sind blaßbläulich-grün bis ausgesprochen hellgrün, je nachdem sie sich an dünner oder dicker ausgestrichenen Stellen befinden. Das Plasma ist entweder ganz farblos oder hellgelb, an dicken Stellen hellgrün. Die Epithelien sind gelblich-grün, und nur einzelne kleine runde (Mastzellen) nehmen mitunter eine lila Farbe an, die jedoch immer ganz blaß und nicht imstande ist, die viel dunkleren Gonokokken zu verdecken.

Die Gonokokken sind an dünnen Stellen rötlich-violett, an dicken beinahe schwarz, wodurch sie selbst hier bei Drehungen der Mikrometerschraube deutlich hervortreten. Andere Urethralbakterien werden meist sehr schwach oder gar nicht gefärbt, wodurch die Diagnose erleichtert wird, was wir besonders bei Untersuchungen der weiblichen Genitalsekrete beobachten können. Mit einer der gewöhnlichen Färbe-

1) Erschienen im Journ. dermatol. i syphilidologii. 1902. No. 1. [Russisch.]

methoden gefärbt, enthalten solche Präparate so viele banale Stäbchen und Kokken, daß ein Auffinden und Differenzieren der Gonokokken häufig beinahe unmöglich ist. Mit meiner Lösung gefärbt, treten die gut gefärbten Gonokokken deutlich hervor und ist die Anzahl der anderen schwach gefärbten Bakterien stets relativ gering — ein Zeichen, daß der größte Teil derselben überhaupt die Farbe nicht aufgenommen hat.

Mir hat die Auramin-Thionin-Methylgrünlösung in zweifelhaften Fällen mitunter sogar Dienste in differentialdiagnostischer Beziehung geleistet.

Besonders wichtig für den praktischen Arzt ist der Umstand, daß es bei Anwendung dieser Methode durchaus nicht notwendig ist, die Präparate gleichmäßig dünn auszustreichen und selbst in den dicksten Schichten die Gonokokken vorzüglich nachweisbar sind. Wir brauchen daher Fäden und andere schwer zerstreichbare Schleimstücke nicht auszustreichen, wodurch die Struktur der Fäden und die Lagerung der Gonokokken leiden könnte, sondern wir untersuchen sie so, wie sie sind.

Von den bereits vorhandenen Färbemethoden sind diejenigen mit Methylgrün und Dahlia (Lehnhartz, Foulerton) der meinigen noch am ähnlichsten. Doch sind bei jenen Färbungen die Gonokokken sehr viel heller (rot) und sämtliche Epithelien schmutzig-rötlich, was bei Vorhandensein vieler Epithelien die Untersuchung beeinträchtigt.

Die Zubereitung meiner Farbe ist folgende:

| | | |
|---|---|---|
| Konzentr. alkohol. Auraminlösung | 2 | ccm |
| Spiritus (95°) | 1,5 | „ |
| Konzentr. alkohol. Thioninlösung | 2 | „ |
| „ wäßr. Methylgrünlösung | 3 | „ |
| Wasser | 6 | „ |

Die so bereitete Lösung ist sofort zum Gebrauch geeignet und hat sich bei mir im Verlaufe eines Jahres unverändert gehalten. Die konzentrierten alkoholischen Lösungen präparierte ich auf 95-gräd. Spiritus, indem ich den Farbstoff über der Flamme löste und dann die Lösung kalt filtrierte.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

## Inhalt.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXIII. No. 4.

*Nachdruck verboten.*

# Ein Beitrag zur Frage der Pathogenität des Bacillus subtilis, besonders für das Auge.

[Aus der Universitätsaugenklinik in Freiburg. Prof. Axenfeld.]

Von Dr. **B. Kayser,** Assistenzarzt.

Mit 1 Figur.

Der sogenannte Heubacillus, Bacillus subtilis (Ehrenberg), welcher bekanntlich fast überall vorkommt, besonders in Acker- und Wiesenerde, und aus Heuinfus leicht zu erhalten ist, wurde bis vor kurzem von allen Autoren als ein nicht pathogener Saprophyt angesehen. Er ist schon lange auch als gelegentlicher Bewohner der menschlichen Conjunctiva bekannt und wurde auch hier zu den Harmlosen gezählt (vergl. z. B. Brandt's Aufzählung der Conjunctivalbewohner. 1895). Zwei italienische Forscher, Pernice und Scagliosi[1]), haben in einer experimentellen Arbeit Resultate erzielt, nach welchen sie eine Unschädlichkeit für den Tierorganismus annehmen mußten. Speziell für das Auge unterstützten diese Ansicht andere experimentelle Arbeiten, so z. B. eine 1895 veröffentlichte Arbeit von M. Perles und eine Arbeit von Lobanow aus dem Jahre 1899. Perles[2]) hatte Reinkulturen verschiedener Mikroben in die Hornhaut, in die Vorderkammer oder in den Glaskörper von Kaninchen geimpft und sowohl den klinischen Verlauf wie die mikroskopischen Veränderungen beobachtet: Der Bacillus subtilis rief „keine wesentlichen Veränderungen hervor, nur zuweilen fibrinöse, hämorrhagische Iritis mit baldiger Heilung unter Zurücklassung von Synechien". „Das Vorderkammerexsudat war schon nach wenigen Tagen steril ohne wachstumsfähige Bacillen." Lobanow[3]) hat gleiche Resultate zu verzeichnen; er hat ebenfalls neben anderen auch Reinkulturen von B. subtilis (0,1—0,2) ccm in Vorderkammer oder Glaskörper von Kaninchenaugen verimpft und nie Panophthalmie oder Iridocyclitis, sondern nur leichte, in 5—7 Tagen heilende Iritis erzielt.

Daß aber Vertreter der Heubacillengruppe unter Umständen eine hohe Virulenz besitzen und für das Auge zu einem höchst gefährlichen Feind werden können, kann nach den neuesten Erfahrungen wohl nicht mehr bezweifelt werden.

Auf dem diesjährigen Heidelberger Ophthalmologenkongreß brachten Baenziger und Silberschmidt an der Hand eines genau untersuchten Falles den Beweis, daß aus Ackererde stammende Heubacillen eine rapide Panophthalmie hervorrufen können. Bei einer sogenannten Hackensplitterverletzung, welche in 24 Stunden zu Panophthalmie geführt hatte, war der einzig nachweisbare Mikroorganismus ein Heubacillus, und Einimpfung von Reinkulturen desselben, sowie von frischer Erde desselben Ackers erzeugte wieder Panophthalmie in Kaninchen-

1) Pernice und Scagliosi, Ueber die Ausscheidung der Bakterien aus dem Organismus. 1895.

2) Perles, M., Untersuchungen zur Lehre von den Infektionskrankheiten des Auges. (Virchow's Arch. Bd. CXL. 1895. p. 209.)

3) Lobanow, Zur Bedeutung der nicht pathogenen Bakterien in der Infektionspathologie des Auges. (Westnik Ophthalm. Bd. XVI.)

augen, aus denen wieder Heubacillus gezüchtet wurde. Es sind auch schon im Jahre 1890 in der Haabschen Klinik in Zürich von Frau Poplawska[1]) die Befunde von 12 an Fremdkörperpanophthalmie zu Grunde gegangenen Augen veröffentlicht, von denen in 8 Augen als einziges Bacterium ein meist dicht um den Fremdkörper gelagerter Bacillus gefunden wurde, dessen Beschreibung und Abbildung sehr wohl auf den Bac. subtilis paßt. Jedoch konnte, da die Bulbi in Alkohol gehärtet waren, keine Kultivierung mehr unternommen werden, und deshalb keine bestimmte Diagnose ausgesprochen werden.

Dem von Baenziger und Silberschmidt veröffentlichten ersten genau untersuchten Fall kann ich nun neue Beobachtungen an die Seite stellen, welche seither in der Universitätsaugenklinik in Freiburg zur Behandlung kamen. Von 4 Fällen in den Glaskörper eingedrungener Fremdkörper verliefen 2 ohne Eiterung nach der Magnetoperation und boten auch kulturell einen negativen Befund. Die zwei anderen Augen aber gingen an rapider Panophthalmie zu Grunde.

1. Fall.

Einem 30-jährigen Landmann R. H. war am 9. Oktober 1902 mittags 1 Uhr beim Kartoffelhacken etwas ins Auge geflogen. Das Auge wurde sofort trüb und schmerzte. Nachts um 4 Uhr will Patient bereits mit dem verletzten Auge das Lampenlicht nicht mehr haben erkennen können. Morgens um 8 Uhr, bei unserer ersten Untersuchung, fand sich bereits eine ausgesprochene Panophthalmie und erloschenes Sehvermögen. Es war außen am Cornealrand eine perforierende Wunde und eine entsprechende in der Iris im Kammerwinkel. Das Sideroskop zeigte die Anwesenheit eines im Innern des Auges befindlichen Eisensplitters an. Am gleichen Vormittag wurde derselbe mit dem Volkmannschen Riesenmagneten entfernt. Die Panophthalmie entwickelte sich rapid weiter und am folgenden Morgen wurde die Exenteratio bulbi vorgenommen.

Der klinische Verlauf des 2. Falles war ähnlich:

Einem 75-jährigen Taglöhner Kl. flog am 26. August 1902 beim Steinklopfen abends zwischen 5 und 6 Uhr ein Steinsplitter in das Auge. Am folgenden Morgen bereits war schwere eiterige Entzündung zu konstatieren. Auf der Hornhaut war eine mit dicker eiteriger Masse belegte perforierende Wunde, hinter derselben ein dicker Eiterpfropf, der bis an die Iris reichte. Es bestand schwere, eiterige Iritis, so daß die Form der engen und mit Exsudat belegten Pupille nicht mehr zu erkennen war. Es war zwar noch etwas Lichtempfindung vorhanden, aber die Projektion fehlte bereits. Die ödematös geschwellten Lider trugen auf der Conjunctiva einen auffallend zähen dicken Membranbelag. Die Panophthalmie schritt fort. Am 7. Tage entleerte sich spontan mit einem dicken Eiterpfropf ein Steinsplitter aus der Wunde. Am 19. Tage wurde zur Beschleunigung der Behandlung die Exenteratio bulbi gemacht.

Beide Fälle sind genau bakteriologisch untersucht worden, und zwar wurde sofort bei der Aufnahme das Conjunctivalsekret und später, wie der Verlauf es bot, der Wundeiter und Bulbusinhalt dazu entnommen.

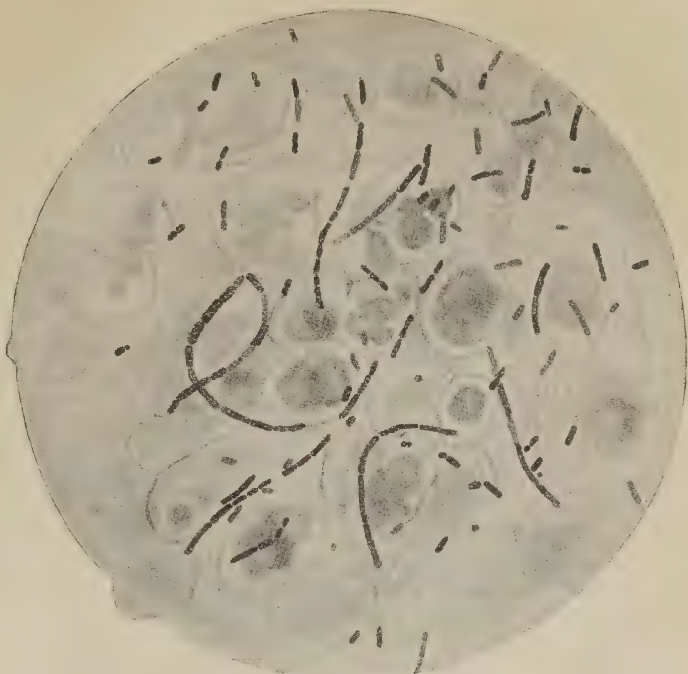
Im ersten Fall erhielten wir von der Conjunctiva sowohl im mikroskopischen Präparat wie in Kulturen (2 Serumröhrchen) nur Xerosebacillen. Es wurde dann nach der Magnetextraktion der Eisensplitter sofort auf Serum verrieben, ebenso ein excidiertes Irisstückchen, ferner am 1. Tage fibrinös-eiteriges Vorderkammerexsudat, welches aus der Wunde herausdrängte. Nach der Exenteration wurden von dem aseptisch aufgefangenen Bulbusinhalt, von Vorderkammerinhalt und von Glaskörpereiter je 2 Agar- und 2 Serumröhrchen beschickt. Zugleich wurden von letzterem mikroskopische Präparate gemacht. — Das einheitliche Resultat all dieser Untersuchungen war, daß als einzig nachweisbares Bakterium ein zur Gruppe der Heubacillen gehöriger Bacillus

---

1) Poplawska, Stanislawa, Zur Aetiologie der Entzündung des Auges nach Verletzung durch Fremdkörper. (Knapps Archiv. Bd. XXII. 1890.)

gefunden wurde, und zwar in den mikroskopischen Präparaten derselbe wie in den Kulturen.

In dem fibrinös-eiterigen Vorderkammerexsudat waren, geradezu massenhaft verteilt, dicke Bacillen mit abgerundeten Ecken, welche, häufig bis zu 8 hintereinander liegend, einen Faden bildeten. Sie waren gut nach Gram gefärbt. Im allgemeinen waren sie bis zu 5,6 $\mu$ lang und 1,8 $\mu$ breit, viele dagegen waren kürzer, bis zu ovaler Form. Oft war im Centrum eine ovale ungefärbte Stelle (Sporenbildung). Manche waren überhaupt schlecht gefärbt oder gar nicht, manche zerfielen wie in Segmente. Beziehungen zu Eiterzellen bestanden nicht. Im Glaskörpereiter fanden sich dieselben Bacillen, nur nicht so massenhaft, und viel mehr zerfallende und schlecht gefärbte Formen.



Glaskörpereiter mit Bac. subtilis.

Der zweite Fall unterschied sich zunächst von dem ersten dadurch, daß wir bereits von der Conjunctiva, und zwar von dem erwähnten, eigentümlich zähen, dicken, membranösen Belag denselben Bacillus sowohl im Präparat wie in den Kulturen fanden. Außer ihm aber fanden sich noch Staphylococcus pyogenes aureus und albus, ebenso wuchs St. p. aureus auf dem Serumröhrchen, auf welchem der am 7. Tage entleerte Steinsplitter verstrichen war. Der am 19. Tage gewonnene Glaskörper wurde auf Agar und Serum verimpft, er enthielt indessen keine wachstumsfähigen Mikroorganismen mehr. Im mikroskopischen Präparat fanden sich im Glaskörper nur wenige, schlecht gefärbte Heubacillen.

Zunächst lag uns nun ob, die nähere Bestimmung dieses Bacillus zu machen und die Frage zu entscheiden, ob wir es thatsächlich mit einem Heubacillus zu thun hatten:

Er wuchs in beiden Fällen in gleicher Weise und entwickelte sich so, wie es für den Bac. subtilis als charakteristisch gilt, auf Blutserum, Peptonagar, Glycerinagar, auf Kartoffeln und in Bouillon mit Häutchenbildung, er verflüssigte Gelatine und koagulierte Milch. Aeußerst üppig gedieh er bei Brütofentemperatur (33—37 $^{0}$), zeigte bei 58 $^{0}$ noch

Entwickelung, kurze Erhitzung auf 80° störte seine Entwickelungsfähigkeit nicht, indes starb eine 20 Minuten lang auf reichlich 100° erhitzte Kultur ab. Bei Zimmertemperatur (im Durchschnitt 14—16°) wuchs er gut bis zu 10° herab, bei 6—2° entwickelte er sich zwar nicht mehr recht, aber verlor, in höhere Temperatur zurückgebracht, seine Wachstumsfähigkeit nicht. Ebensowenig schadete ihm 16-tägiger Aufenthalt in der anaëroben Kammer, wenn er auch nicht recht darin gedeihen wollte. Im hängenden Tropfen zeigte er Eigenbewegung. Er bildete die Sporen in der für ihn charakteristischen, ihn vom Kartoffelbacillus unterscheidenden, Weise. Eine Kapsel besaß er nicht, auch an Präparaten, welche aus geimpften Tierorganen (siehe unten) gewonnen waren, hatte Kapselfärbung ein negatives Resultat, was neben anderem Milzbrand ausschließt. Die Färbung nach Gram gelang stets gut, ebenso wie nach Weigert, bei ersterer allerdings gab er bisweilen bei etwas längerer Alkoholeinwirkung die Farbe gern ab.

Aus allen diesen Eigenschaften glauben wir uns berechtigt, die Diagnose auf Bacillus subtilis zu stellen. Herr Dr. Erne, erster Assistent des hygienischen Instituts in Freiburg, hatte die Liebenswürdigkeit, den Bacillus ebenfalls zu untersuchen, und bestätigte unsere Annahme, wofür ich ihm auch an dieser Stelle bestens danke.

Um nun die Frage der Pathogenität, welche, wie oben erwähnt, bisher nicht anerkannt wurde, ebenfalls zu prüfen, wurden zahlreiche Tierexperimente gemacht, und zwar vor allem in Bezug auf das Auge, für Hornhaut, Vorderkammer und Glaskörper, sodann auch für den Tierorganismus im allgemeinen durch subkutane und intraperitoneale Einimpfungen an verschiedenen Tieren.

1) Am wichtigsten waren uns die Glaskörperimpfungen. Von diesen wurden 4 gemacht, und zwar 3 von ziemlich jungen Generationen und die 4. nach 5 Wochen langer Fortzüchtung. Sie hatten alle den gleichen, für das Auge sehr verderblichen Verlauf. Es wurde mit sterilisierter Spritze ein wenig 2—3-tägige Bouillonkultur eingespritzt und bereits nach 12, deutlicher nach 24 Stunden war eine ausgeprägte Panophthalmie eingetreten. Aus dem heftig entzündeten Auge leuchtete aus der Pupille gelbweiß der vereiterte Glaskörper hervor. Besonders heftig verlief die erste Impfung von dem aus dem 2. Fall gewonnenen Subtilis, wo es schon am 3. Tage zur Perforation und dann zu rapider, totaler Zerstörung des Bulbus kam. In einem anderen Fall versagte nach Einführung der Kanüle die Spritze, das wenige Material jedoch, was in den Glaskörper eingedrungen sein konnte, genügte schon zu vollem Resultat. 3 Augen wurden am 5. resp. 8. Tage enukleiert. In den Präparaten von Glaskörpereiter und Vorderkammerinhalt war wieder nur Subtilis zu finden und in den angelegten Kulturen wuchs ebenfalls nur Subtilis in Reinkultur. Der Glaskörpereiter zeichnete sich durch eigentümliche Zähigkeit und Klumpigkeit aus.

2) Hornhautimpfungen, 4 Versuche: In eine central gelegene, möglichst große Cornealtasche wurde möglichst reichlich Serum- oder Agarkultur gebracht, in dem einen Fall von dem gleichen Stamm, welcher bei Glaskörperimpfung die oben erwähnte heftigste Panophthalmie hervorgerufen hat. Trotzdem gelang es nie, eine wesentliche Reaktion hervorzurufen, wohl Infiltration der Umgebung und geringe Trübung der ganzen Cornea, aber nie Ulceration. Nach wenigen Tagen war der Zustand wieder reizlos, so daß man das Resultat als negativ bezeichnen mußte.

3) Die Vorderkammerimpfung hatte zunächst eine heftige

Reizung zur Folge mit Iritis (ohne Hypopyon) und starke Trübung der Cornea. Die Entzündung ging indessen, ohne zu Vereiterung zu führen, allmählich zurück und machte schließlich einem fast normalen Zustand wieder Platz, abgesehen davon, daß an der Einstichstelle eine Ektasie bestehen blieb.

4) Die subkutanen Einspritzungen, ebenfalls wie die übrigen mit 2—3-tägiger Bouillonkultur gemacht und zwar 7 unter die Rückenhaut von Kaninchen in verschiedenen Mengen (bis zu 4 ccm), waren erfolglos. Eine Absceßbildung trat nie ein. Es ist indessen zu erwähnen, daß ein Tier, dem wiederholte Einspritzungen (auch 1 intraperitoneale) gemacht wurden, merklich abmagerte, trotz guter Freßlust.

5) Die intraperitonealen Injektionen. Dieselben wurden an Kaninchen, Meerschweinchen und weißen Mäusen gemacht, ebenfalls mit 2—3-tägiger Bouillon. Kaninchen vertrugen bis zu 10 ccm reaktionslos, und Versuche mit höheren Dosen wurden dann nicht mehr gemacht. Meerschweinchen reagierten nicht auf Injektion von reichlich 1 ccm, ein Tier aber, welches 2 ccm, und ein extra kräftiges, welches 3 ccm Bouillon erhielt, verendete in wenigen Stunden. Schließlich bei weißen Mäusen erhielten wir ein gleiches Resultat, indem Dosen 0,1 ccm und 0,2 ccm sich als unschädlich erwiesen, aber 0,3 ccm und 0,4 ccm in wenigen Stunden (4–6) den Exitus herbeiführten. Aus den Organen der wenige Stunden post mortem sezierten Tiere — Leber, Milz und Herz — wuchsen üppige Reinkulturen und Abstrichpräparate enthielten, wenn auch nur mäßig viele — Subtilis-Bacillen.

Im Anschluß hieran sei hier ein Schlußversuch erwähnt, der gemacht wurde, um zu prüfen, ob in den Bakterienleibern oder in der Kulturflüssigkeit die Wirkung liegt. Bouillonkultur, welche vorher 2mal durch das Chamberlandsche Filter gegangen war, wurde zu 3 weiteren Impfungen benutzt. Es wurde davon 1 Glaskörperimpfung an einem Kaninchenauge gemacht, dieselbe rief jedoch keine Reaktion hervor. Dann wurden 2 intraperitoneale Injektionen an Meerschweinchen gemacht und es zeigte sich, daß 3,5 ccm reaktionslos vertragen wurden. Es wird davon noch weiter unten die Rede sein.

Nun fanden sich aber in dem 2. Fall außer dem Bacillus subtilis noch der Staphylococcus pyogenes aureus und albus, von welchen besonders der erstere einer Virulenz verdächtig war. Der Staphylococcus pyogenes aureus rief, in den Kaninchenglaskörper eingespritzt, eine ganz gleiche heftige Panophthalmie hervor wie der Subtilis, und aus dem Eiter des enukleierten Auges ließ er sich weiter züchten; die Hornhautimpfung verlief auch hier negativ, und Injektion unter die Haut rief lebhafte Absceßbildung hervor. Der Staphylococcus pyogenes albus wurde ebenfalls in den Glaskörper eingespritzt, es trat ganz langsam, ohne wesentliche akute Entzündungserscheinungen, eine völlig auf den hinteren Bulbusabschnitt beschränkte Eiterung im Glaskörper ein. Eine Vorderkammerimpfung hatte Iritis und Hypopyon zur Folge mit langsam eintretender Rückbildung zur Reizlosigkeit, die Hornhautimpfung verlief negativ.

Fassen wir nun die Resultate unserer Untersuchung zusammen, so ergeben sich folgende Thatsachen:

In den beiden Fällen, in welchen nach Eindringen eines Hackensplitters in den Glaskörper des Auges eine rapide Panophthalmie eintrat, wurde 1mal allein, das andere Mal zusammen mit Staph. p. aureus und albus der Bacillus subtilis gefunden. Der in den aus den Fällen gewonnenen Reinkulturen gefundene Bacillus ist derselbe,

wie der in den mikroskopischen Präparaten enthaltene. Derselbe besitzt eine ganz besondere Virulenz für den Glaskörper, indem er denselben rapid zur Vereiterung bringt und Panophthalmie hervorruft. Er entfaltet aber in der Hornhaut keine schädliche Wirkung und scheint für dieselbe nicht gefährlich zu sein.

Er ist in größeren Dosen intraperitoneal pathogen für Meerschweinchen und weiße Mäuse, da 2 ccm resp. 0,3 ccm raschen Tod derselben herbeiführen. Kaninchen überwinden höhere Dosen, leiden aber in ihrem Allgemeinzustand. — Für den 1. Fall ist der Beweis erbracht, daß der Bac. subtilis der alleinige Erreger der heftigen Panophthalmie war. Im 2. Fall zeigte zwar der Staph. p. aureus eine gleich hohe Virulenz wie der B. subtilis. Es genügt aber wohl das Resultat der Tierversuche zum Beweis, daß auch hier der B. subtilis sich schwer pathogen verhielt. Denn daß der Glaskörper am 19. Tage keine wachstumsfähigen Bakterien mehr enthielt, kann uns nicht wundern.

Die Resultate unserer Versuche entsprechen also ganz dem Befunde von Baenziger und Silberschmidt. Es kann nicht zweifelhaft sein, daß unter Umständen aus der Erde stammende Subtilis-Bacillen, wenn sie mit einem Fremdkörper bis in den Glaskörper eindringen, sich dort durchaus nicht wie harmlose Saprophyten verhalten. Auch in einem alten, aus der Sammlung von Prof. Axenfeld stammenden Bulbus mit Glaskörpervereiterung ließ sich durch die Weigert'sche Bakterienfärbung im mikroskopischen Präparat ein gleicher Bacillus nachweisen.

Auffallend ist, wie rasch die Funktion der Retina erlischt; in den mikroskopischen Präparaten findet man eine völlige Degeneration der Retinalschichten, besonders des Neuroepithels. Es mag das die Wirkung der von dem B. subtilis produzierten Toxine sein.

Auf die elektive Pathogenität des B. subtilis, daß er, in den Glaskörper eindringend, Panophthalmie erzeugt, dagegen in der Cornea unschädlich zu sein scheint, haben auch Baenziger und Silberschmidt hingewiesen. Vielleicht kommen hier in Betracht die niedrigere Temperatur, die größere Gewebsspannung in der Cornea und dem gegenüber hervorragend gute Bedingungen im Glaskörper. Vielleicht ist die Pathogenität des B. subtilis noch an gewisse, bisher unbekannte Bedingungen geknüpft.

Daß man, entsprechend den früheren Anschauungen, auch im menschlichen Conjunctivalsack Subtilis finden wird, der sich als nicht pathogen herausstellt, wird uns nicht wundern. So züchten wir gegenwärtig einen von der Conjunctiva eines Patienten herrührenden Stamm, welcher, in den Glaskörper gespritzt, keine wesentliche Reaktion erzeugt hat, und von dem, intraperitoneal injiziert, Meerschweinchen selbst 4 ccm reaktionslos vertrugen.

Nicht uninteressant ist es übrigens, daß der dem Bac. subtilis sehr nah verwandte Kartoffelbacillus, der bis dahin auch stets als nichtpathogen galt, vor kurzem (in den Annales de l'Institut Pasteur. 1902) der Pathogenität beschuldigt wird, indem er eine epidemische Krankheit der Bienen verursachen soll.

Zum Schluß erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Axenfeld für die Anregung und gütige Unterstützung bei dieser Arbeit an dieser Stelle meinen herzlichen Dank auszusprechen.

---

*Nachdruck verboten.*

# Plague Bacilli in the Blood.

[Pathological laboratory of the medical department of Washington University, St. Louis, Mo.]

By **William J. Calvert.**

During two epidemics of plague in Manila, P. I., in 1900 and 1901, it was found that clinical examinations of the blood for the Bacillus pestis gave unreliable data for diagnostication. No weight could be placed on negative findings. This experience naturally suggested a systematic, clinical examination of the blood.

Blood taken at intervals of four hours from the ear of patients, after their admission to the hospital, was examined in smears and cultures. This plan was followed until the death or recovery of the patient. In the event of recovery examinations were made so long as positive results were obtained, after which occasional examinations were made until the discharge of the patient. Smears were stained by Gram's gentian violet; examined and decolorized and lightly stained with methylen blue or carbol-fuchsin. After Gram's stain, with methylen blue or carbol-fuchsin, the bi-polar staining of plague bacilli is well shown. Without some preparation, as absolute alcohol or Gram's decolorization, the bacilli often fail to take a bi-polar stain by ordinary methods.

In all thirty six cases were examined, four of which recovered.

Most of the cases were followed to autopsy when the plague organism was demonstrated in culture and often by animal inoculation. In this work the cases were not selected nor are they chronologically or systematically arranged.

Brief note of cases.

1. M. d. l. C. Five days in hospital, smears positive within twenty four hours before death, only few bacilli found, earlier examinations negative, cultures negative throughout.
2. R. S. One day in hospital, smears showed large numbers of bacilli.
3. P. R. Entered hospital May 3, died May 4. On May 3 smears and cultures negative, on May 4 smears and culture positive.
4. E. S. Same as No. 2.
5. L. L. On third day before death many organisms found in smears and cultures; at death very few; omitted from table.
6. F. A. Entered May 7, died May 13, smears positive from 7 to 13, cultures from 9 to 13.
7. B. P. Smears and cultures were positive four days before death.
8. G. P. In hospital four days, 1st day negative, remaining three days smears and cultures positive.
9. F. V. Same as No. 8.
10. A. d. l. C. Two days in hospital, smears and cultures positive both days.
11. F. I. Same as No. 2.
12. V. P. Entered May 13, died 14. Smears and cultures positive. In smears bacilli were very numerous and in clumps sufficiently large to form emboli.
13. L. R. Same as No. 10.
14. E. L. In hospital four days, smears and cultures negative first three days and positive fourth.
15. C. P. Admitted Apr. 29, died May 3; smears and cultures negative 29 and 30, positive from 1 to 3.
16. V. d. l. C. Same as No. 2.
17. P. H. Same as No. 2.
18. M. E. Same as No. 10.
19. M. A. Same as No. 2.
20. Woman. In hospital three days, smears and cultures positive three days.

21. P. M. Same as No. 2.
22. I. M. Smears and cultures positive two days before death.
23. J. V. Entered April 19, died 4 A. M. 21; smears and cultures negative on 19; 6 P. M. on 20 both positive.
24. J. C. Entered April 23; second day of disease, died 25; smears and cultures positive 23, 24 and 25.
25. J. P. Recovery. Pustule, suppurating bubo, smears and cultures positive eight days.
26. A. D. Entered April 28, died May 3; smears negative 28 and 29, positive 30, 1, 2, 3; cultures positive 2 and 3.
27. V. C. Same as No. 2.
28. M. S. Recovery, smears positive first day in hospital.
29. D. L. Organism first found within twenty four hours before death.
30. F. C. Four days in hospital; smears and cultures negative first three days, positive fourth day.
31. R. P. Smears and cultures first found within forty eight hours before death
32. M. d. l. P. Recovery; smears positive forty five days.
33. R. C. Recovery; smears positive on third day in hospital, negative on fourth, few on fifth after which smears were negative.
34. P. S. Same as No. 10.
35. G. L. Same as No. 2. Smears teeming with bacilli.
36. M. S. C. Entered March 27, died 7/30 P. M. 29, afternoon of 27 and 28 smears and cultures negative, 6 A. M. 29, six bacilli in one and two bacilli in a second smear; two cultures positive.

1/30 P. M. 29, two smears large number of organisms, cultures positive.

6 P. M. 29, two smears, number of bacilli much greater than at 1/30 P. M.; two cultures both of which grew in continuous streaks.

The following tables show the results in thirty one cases.

Cases under observation in which the organism was found in peripheral circulation for the first time within

Table I.

| Time | Cases | Percentum |
|---|---|---|
| 24 hours before death | 6 | 19,3 |
| 48 „ „ „ | 1 | 3,2 |
| 72 „ „ „ | 4 | 12,9 |
| 96 „ „ „ | 2 | 6,4 |
| 120 „ „ „ | 1 | 3,2 |

Case in which the organism was found in peripheral circulation on admission to the hospital within

Table II.

| Time | Cases | Percentum |
|---|---|---|
| 24 hours before death | 10 | 32,6 |
| 48 „ „ „ | 6 | 19,3 |
| 72 „ „ „ | 1 | 3,2 |

Cases under observation in which cultures were positive for first time within

Table III.

| Time | Cases | Percentum |
|---|---|---|
| 24 hours before death | 7 | 22,6 |
| 48 „ „ „ | 3 | 9,7 |
| 72 „ „ „ | 3 | 9,7 |
| 96 „ „ „ | 2 | 6,4 |

Cases in which cultures were positive on admission within

Table IV.

| Time | Cases | Percentum |
|---|---|---|
| 24 hours before death | 10 | 32,6 |
| 48 „ „ „ | 5 | 16,1 |
| 72 „ „ „ | 1 | 3,2 |

Cases 5, 25, 32 and 33 have been omitted from the tables, see brief note of cases.

It is surprising to note in table I that 19 % of cases did not develope septicaemia until the last day of disease.

Table III shows cultures to be of but little more value than that of smears. Cultures and smears were, as a rule, positive on the same day. In three cases smears were positive earlier than cultures. This may be explained by the relatively small number of organisms in the blood, or by some fault in technique.

In all of the fatal cases the Bacillus pestis was found in smears and cultures within twenty four hours before death; in seven cases within forty eight hours; in five cases within seventy two hours; in two cases within ninety six hours; and in one case within one hundred and twenty hours. Reducing these figures to percentages for the number of fatal cases we have for

Table V.

| Time | Cases | Percentum |
|---|---|---|
| 24 hours before death | 31 | 100,00 |
| 48 „ „ „ | 7 | 22,57 |
| 72 „ „ „ | 5 | 16,12 |
| 96 „ „ „ | 2 | 6,45 |
| 120 „ „ „ | 1 | 3,22 |

These percentages are not absolutely correct because some of the cases gave positive results on admission. This would tend to give the third and fourth days larger percentages. The progressive terminal septicaemia is shown.

It was most interesting to watch the development of septicaemia. At first only several, sometimes only one organism, could be found in one or more smears; four hours later a distinct increase in the number of bacilli could be noted. This increase continued until just before death, when the blood was, in some cases, but little more than a liquid mass of bacilli. Clumps of bacilli were seen in only one case.

Bacilli enter the general circulation through three channels, lymphatic vessels, blood vessels of lymphatic glands and by direct growth through tissues surrounding the large vessels.

It is difficult to explain the marked difference in time of the development of septicaemia; but when started its development is rapid. In one case marked septicaemia was present three days before death but at the time of death and at autopsy it was difficult to find an organism in the blood. In this case a secondary pneumonia developed.

For diagnostication the following percentages may be had from table No. V.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Within 24 hours before death | 31 cases | positive | 100,00 % | |
| „ 48 „ „ „ | 15 „ | „ | 48,39 „ | = 1:2 |
| „ 72 „ „ „ | 8 „ | „ | 25,80 „ | = 1:4 |
| „ 96 „ „ „ | 3 „ | „ | 9,68 „ | = 1:10 |
| „ 120 „ „ „ | 1 „ | „ | 3,22 „ | = 1:30 |

On account of the small number of cases considered these percentages are only relatively correct.

It is to be regretted that in this work the day of development of septicaemia must be counted back from day of death, but an absence of or conflicting histories precludes any consideration of the day of disease, except in cases so noted.

In a large percentage of fatal cases the duration of the disease is from four to six days. By subtracting the above results from these figures and from case 24 it is seen that the organisms may be found in the peripheral circulation from the second day of the disease until death.

In fatal cases bacilli are, practically, always found in the peripheral circulation sometime during the course of the disease. It is interesting to note the positive findings in the four cases which recovered. In one of these cases bacilli were found in the blood for a period of forty five days.

In the events of negative blood examinations one must rely on the clinical picture or to puncturing a bubo, if one is developing.

---

*Nachdruck verboten*

# Das Vorkommen von Bakterien und die Flimmerbewegung in den Nebenhöhlen der Nase.

[Aus dem pathologischen Institute der Universität Lund.]

Vorläufige Mitteilung.

Von **Franz Törne**, prakt. Arzt.

Derjenige, welcher die Nasennebenhöhlen in normalem Zustande, und zwar beim Menschen, zuerst einer, wenn auch beiläufigen bakteriologischen Prüfung unterzog, war v. Besser[1]). Seine diesbezüglichen Erfahrungen blieben indessen auf die alleinige Untersuchung der Stirnhöhlen dreier Leichen beschränkt. Nachdem von der Schädelhöhle aus die hintere Sinuswandung aufgemeißelt war, wurde hierbei unter Verwendung einer sterilen Platinöse eine Probe herausgenommen und in Agar-Agar verteilt. In keinem Falle konnte Besser nachweisbares Wachstum von Mikroorganismen erzielen.

Eine umfassendere Untersuchung normaler Nasennebenhöhlen beim Menschen ist später durch E. Fränkel[2]) ausgeführt worden. Dieser hat hierbei, um festzustellen, ob die normalen Nebenhöhlen von Bakterien frei waren oder nicht, von einem Material Gebrauch gemacht, das nicht weniger als 50 Leichen entnommen war. In Bezug auf das Oeffnen der Höhlen wurde von ihm bei diesen Untersuchungen die Sektionstechnik nach Harke[3]) befolgt. Die erhaltenen Proben sind mittels steriler Platinöse aufgefangen und sogleich auf Glycerin-Agarplatten ausgestrichen worden.

Unter den geprüften Fällen haben hierbei nur 28 eine „völlig intakte“ Beschaffenheit der Nebenhöhlen gezeigt; unter diesen 28 Fällen sind wiederum nur 13 als völlig steril befunden worden. In dem Sinus maxillaris fanden sich in 11 Fällen Mikroorganismen vor; der Sinus frontalis zeigte sich in 6 und der Sinus sphenoideus in 5 Fällen als infiziert.

Da die soeben besprochenen Obduktionen sämtlich in die kältere Jahreszeit fielen, und zwar mit wenigen Ausnahmen innerhalb der ersten 24 Stunden, ja bisweilen sogar schon innerhalb der 8.—10. Stunde nach dem Tode zur Ausführung gelangten, so meint Fränkel, daß es keinem Zweifel unterworfen sei, die gefundenen Bakterien seien schon intra vitam in den Nebenhöhlen vorhanden gewesen. Er hebt infolgedessen

---

1) v. Besser, Ueber die Bakterien der oberen Luftwege. (Ziegler's Beitr. zur pathol. Anatomie und zur allg. Pathologie. Bd. VI. 1889. p. 333.)

2) Fränkel, E., Beitr. zur Pathologie u. Aetiologie der Nasennebenhöhlenerkrankungen. (Virchow's Arch. Bd. CXLIII. 1896. p. 42.)

3) Vergl. Virchow's Arch. Bd. CXXV. Heft 2.

als Hauptergebnis der Untersuchung folgendes hervor: „Es darf demnach als eine bisher unbekannte, durch die vorstehenden Untersuchungen erhärtete Tatsache bezeichnet werden, daß ein großer Teil von in Bezug auf das Verhalten der Nasennebenhöhlen normalen Menschen in diesen Kavitäten Mikroorganismen beherbergt, von denen wir wissen, daß sie bei vielen, namentlich entzündlichen Prozessen der menschlichen Atmungsorgane eine hervorragende Rolle spielen [1]."

Um einen mehr befriedigenden Aufschluß über die letztgenannte Frage, das angebliche Vorkommen von Bakterien in anscheinend normalen Nasennebenhöhlen schon innerhalb des lebenden Organismus, zu erlangen, habe ich seit Januar 1901 in dem hiesigen pathologischen Institute eine Reihe von diesbezüglichen Untersuchungen vorgenommen, und zwar sowohl an frischen Menschenleichen wie an frisch geschlachteten Kälbern, wobei ich mein Hauptaugenmerk darauf gerichtet hielt, die Prüfung möglichst bald nach dem Tode ausführen zu können.

Da ich indessen diesen Untersuchungen nur die Zeit zu widmen Gelegenheit hatte, die mir meine Praxis frei ließ, und verwendbares Menschenmaterial nur spärlich zu erhalten war, so haben sich meine Arbeiten etwas in die Länge gezogen. Es wäre mir auch sehr erwünscht gewesen, jede Veröffentlichung der Ergebnisse meiner Untersuchungen solange aufschieben zu können, bis ich dieselben zu einem allseitig befriedigenden Abschlusse hätte bringen können. Durch einen kürzlich erschienenen Aufsatz von Dr. Calamida und Dr. Berterelli in Turin [2]) sehe ich mich aber veranlaßt, schon jetzt einen kurzen vorläufigen Bericht meiner bis jetzt gewonnenen Erfahrungen mitzuteilen.

In Bezug auf den soeben erschienenen Aufsatz werde ich mir übrigens nur im Vorübergehen die Bemerkung erlauben, daß die Verfasser, wie aus dem oben Angeführten ersichtlich, offenbar einem Irrtum verfallen sind, als sie sich als die ersten betrachteten, die sich mit der vorliegenden Frage beschäftigt haben, sowie daß ihr Menschenmaterial mir allzu knapp bemessen vorkommt, um daraus stichhaltige Schlüsse allgemeiner Art ziehen zu können.

Dasjenige tierische Material, welches ich zu untersuchen Gelegenheit hatte, bestand aus 8 frisch geschlachteten Kälbern, die ich von einem hiesigen Metzger bezog. Unter diesen habe ich 2 Stück von der Betrachtung ausschließen müssen, und zwar aus dem Grunde, weil in diesen Fällen eine schwach blutfarbene Flüssigkeit die Nasenmuscheln bedeckte, sowie die Gänge zwischen denselben zum Teil erfüllte, woraus eine Verunreinigung durch ausgeflossenes Blut sich vermuten ließ.

An Menschenmaterial haben mir 42 frische Leichen zur Verfügung gestanden. Unter diesen waren 11 infolge pathologischer Erscheinungen in den Nebenhöhlen von der Betrachtung auszuschließen. Die übrig gebliebenen, 31 an der Zahl, kamen in den folgenden Zeiträumen nach dem Tode zur Untersuchung: Nach 50 Minuten eine, nach 1 Stunde vier, 1'15 vier, 1'30 zwei, 1'40 eine, 1'45 und 1'50 je zwei, nach 2'20 und 3'5 Stunden je eine, 4'15 und 4'30 je zwei, sowie nach 6'20, 7, 8'55, 9, 9'10, 11'30, 11'55, 19, und 25 Stunden je eine Leiche.

Da es mir bei der Benutzung des Menschenmaterials auferlegt war, das Gesicht der Leiche nicht zu entstellen, so kam es mir darauf an,

1) a. a. O. p. 47.

2) Calamida u. Berterelli, Ueber die Bakterienflora der Nasensini und des Mittelohres. (Diese Zeitschr. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 6.)

ein Verfahren einzuschlagen, welches in gleicher Zeit dieser Forderung gerecht werden konnte, und gleichzeitig dem Ausführen der Operation unter den größtmöglichen Kautelen keine Hindernisse in den Weg stellte und schließlich, im Gegensatz zu den vielfach üblichen Eingriffen von der Schädelhöhle aus, der nachher vorzunehmenden allgemeinen Sektion nicht vorgreifen würde.

Bei der Untersuchung des Sinus maxillaris bin ich infolgedessen in der folgenden Weise vorgegangen: Zuerst wurde die Wange mittelst eines geeigneten Hakens von der oberen Zahnreihe und der Schleimhaut ihrer Alveolarteile entfernt gehalten, und dann wurden durch einen längs der Umschlagefalte der letztgenannten Schleimhaut geleiteten Schnitt, der bis dicht an den Knochen geführt ward, die Weichteile schnell abgelöst. Der Knochen wurde vermittelst eines Brenneisens einer gelinden Kauterisation unterzogen und unter Verwendung eines sterilisierten Hohleisens trepaniert. Ein kleiner und scharfer, sterilisierter Löffel wurde dann durch die auf diese Weise geschaffene Oeffnung hineingeführt und von der Innenfläche der Höhlung ein wenig von dem Wandbelag vorsichtig abgeschabt. Die herausgenommene Probe ist dann zur Aussaat auf die verschiedenen Substrate verwendet worden. Eine zweite Probe habe ich nachträglich behufs sofortiger direkter Beobachtung unter dem Mikroskop herausgenommen. Zuletzt wurde die äußere Wand der Höhle fortgemeißelt, um eine vollständige Inspektion des Inneren zu ermöglichen.

Bei dem Sinus frontalis wurde, um unter möglichst wenigen Verunstaltungen in dessen Inneres zu gelangen, das folgende Verfahren eingeschlagen: Das Skalpell wurde zuerst unter das Augenlid geführt, um die Lig. palpebralia von deren Ansatzstellen an den Knochen abzulösen. Hierauf habe ich das Messer dem Fornix conjunctivae entlang geführt, wobei die Messerspitze bis zum Orbitaldach vordringen, und der Schnitt ein paar Millimeter hinter den Orbitalrand in seiner ganzen Ausdehnung geleitet werden konnte. Nachdem ich das obere Augenlid hierauf mittels eines Hakens stark gehoben und, wenn nötig, einen Teil des Orbitalfettes entfernt hatte, erschien die untere Wandung der Stirnhöhle nunmehr bloßgelegt und war so für weitere Eingriffe zugänglich. Der Knochen wurde in der oben besprochenen Weise kauterisiert und trepaniert, worauf in derselben Art, wie bei dem Sinus maxillaris angegeben, weiterhin verfahren wurde. Zuletzt habe ich das obere Augenlid wieder in seine ursprüngliche Lage zurückgeführt, wonach nur winzige Spuren von dem stattgehabten Eingriffe zu bemerken waren.

Als Substrate für die unternommenen Bakterienkulturen kamen vorzugsweise Bouillon, Serum, Gelatine, Agar-Agar, Glycerinagar, sowie Blutagar zur Verwendung. Wenn hierbei Wachstum eintrat, habe ich womöglich die aufgetretenen Bakterien zu bestimmen gesucht.

Die an tierischem Material ausgeführten Versuche haben nun ergeben:

Daß bei den sämtlichen 6 als einwurfsfrei bezeichneten, frisch geschlachteten Kälbern sowohl der Sinus maxillaris wie der Sinus frontalis völlig steril waren.

In Bezug auf die Verhältnisse bei menschlichem Material hat sich ferner ergeben:

Daß von den 31 in genannter Weise als einwurfsfrei zu bezeichnenden Leichen sich in allen den 17 Fällen der Sinus maxillaris und der Sinus frontalis als steril

erwiesen haben, wo die Untersuchung innerhalb eines Zeitraumes von 2 Stunden bis höchstens 2 Stunden 20 Minuten nach dem Eintreten des Todes stattgefunden hatte;

daß dagegen von den übrigen 14 Leichen, die in Zeitabschnitten von 3 Stunden bis 25 Stunden nach dem Tode untersucht worden waren, sich die Hälfte in Bezug auf die betreffenden Höhlen als steril erwies, während die andere Hälfte das Vorhandensein von Bakterien zeigte; bei dieser ließ sich das Auftreten von Bakterien in keine direkten Beziehungen zu der seit dem Tode verflossenen Zeit bringen.

Nach diesen Untersuchungen zu urteilen, dürfte folglich geschlossen werden:

Daß auch beim Menschen die betreffenden Nebenhöhlen normal steril sind, und

daß die Einwanderung der Bakterien erst einige Stunden nach dem Tode stattfindet, und zwar bisweilen ziemlich schnell, bisweilen langsamer.

Auf die Art und Beschaffenheit der gefundenen Bakterien näher einzugehen, habe ich bei dieser Gelegenheit keine Veranlassung, und ich verweise zu diesem Zwecke auf meine später erscheinende ausführliche Arbeit.

---

Im Anschluß an die soeben besprochenen Befunde, habe ich meine Aufmerksamkeit ebenfalls darauf gerichtet, zu ermitteln, ob das Flimmerepithel der Nebenhöhlen bei dem Zustandekommen dieser Sterilität beteiligt sein möchte. Ich habe nach dieser Richtung hin wiederholte Versuche angestellt.

Auch wenn vorausgesetzt werden darf, daß, wie es nach neueren Untersuchungen[1]) wahrscheinlich ist, der eigentliche Nasenraum und besonders dessen von der Nasenöffnung entfernten Teile viel weniger bakterienhaltig sind, als man a priori anzunehmen geneigt wäre, und wenn auch dieselben nicht selten geradezu steril befunden wurden, so liegt die Annahme doch sehr nahe, daß, sobald Bakterien dortselbst sich vorfinden, die Gefahr einer Einwanderung derselben in das Innere der Nebenhöhlen sehr leicht eintreten würde, sofern keine besonderen Hindernisse gegen eine derartige Einwanderung vorhanden wären.

Das Nächstliegende wäre es wohl, anzunehmen, eine Behinderung käme durch die Tätigkeit der Flimmerbewegungen zustande, die gleichzeitig sehr geeignet wären, das etwaig entstandene Sekret, sowie die möglicherweise eingedrungenen Fremdkörper aus den Höhlen hinauszubefördern. Das Letztgenannte scheint man öfters geglaubt zu haben, und man ist zweifelsohne auch vielfach geneigt gewesen, ohne weiteres vorauszusetzen, daß die Flimmern am Wandepithel der betreffenden Höhlen nach außen, gegen die Mündung der Behälter zu, schlagen. Mit Ausnahme eines unten näher zu besprechenden Versuches, scheinen aber keine direkten Beobachtungen über die Richtung der Flimmerbewegung in den Nasensinus vorzuliegen, ebensowenig wie meines Wissens der exakte experimentelle Beweis erbracht worden ist, daß die Höhlen vermöge ihres Flimmerepithels tatsächlich imstande sind, Staubpartikelchen und dergleichen selbstätig zu entfernen.

---

1) Vergl. u. a. Schousboe, Om bakterier i den normale Naesehule etc. Odense 1900.

In der Absicht, direkte Erfahrungen nach dieser Richtung hin zu gewinnen, habe ich an frischgeschlachteten Kälbern den Kopf durch einen median geführten Schnitt gespalten, worauf in den Sinus maxillaris, entweder durch dessen äußere oder untere Wand, eine kleine Menge fein verteilter Rußpartikelchen eingeführt, und an den oberen resp. medialen Wänden angebracht wurden. Binnen kurzem konnte ich hierbei wahrnehmen, wie dieselben sich in der Richtung gegen die Höhlenöffnung verschoben, und ziemlich rasch durch dieselbe in den Nasenraum hinaus befördert wurden. Es ließ sich dabei auch unschwer feststellen, daß die Geschwindigkeit der Bewegung gerade in dem Gebiete des Verbindungskanales mit der Nasenkavität am größten war. Rußpartikelchen, die sich auf der medialen Wandung der Kieferhöhle in einer Entfernung von 1 cm, von der Apertur gerechnet, befanden, brauchten hierbei 1 Minute, um bis zum nasalen Mündungsteil des Kanales zu gelangen. Innerhalb der eigentlichen Nasenkavität war die Bewegung der ausgetretenen Körnchen hauptsächlich gegen die Nasenöffnungen zu gerichtet, und zwar betrug die Geschwindigkeit in diesem Abschnitte etwa 0,5 cm in der Minute.

An einer menschlichen Leiche, die ich schon 17—18 Minuten nach dem Eintreten des Todes zu untersuchen Gelegenheit hatte, war mit aller Deutlichkeit wahrzunehmen, wie in den Sinus maxillaris eingeführte, auf die obere oder die mediale Wandung derselben gebrachte Rußpartikelchen sofort in Bewegung gerieten. Die Bewegung geschah in diesem Falle ebenfalls der Innenfläche entlang in der Richtung gegen die Höhlenöffnung zu, und durch dieselbe hinein gegen den Nasenraum, so daß ich die Körnchen aus dem Gesichte verlor, und zwar auf ähnliche Weise und mit ungefähr derselben Schnelligkeit, wie es bei den vorhergehenden Beobachtungen an Kälbern der Fall war.

Durch diese Versuche ist also direkt erwiesen worden:

Daß die oben aufgeworfene Frage über die etwaige Mitwirkung des Flimmerepithels der Nebenhöhlen bei deren Freihaltung von Fremdkörpern thatsächlich in bejahendem Sinne zu beantworten ist.

Es hat mich natürlich interessiert, zu erfahren, inwiefern Untersuchungen über das erwähnte Verhältnis schon vorher gemacht worden sind. In den üblichen Handbüchern werden derartige direkte Versuche allerdings nicht erwähnt. Das Einzige, was ich in der Litteratur in Bezug auf diese Frage habe auffinden können, und zwar erst, nachdem ich meine eigenen Beobachtungen schon gemacht hatte, ist eine kurze Notiz bei Todd, worin Sharpey[1]) bei Besprechung von „The direction of the impulsion in the air-passages of Mammalia“ folgendes mitteilt: „In some parts of the nose of the rabbit, I have been able to trace it clearly enough by means of charcoal-powder, the parts being placed in tepid water. On the inferior turbinated bone the grains of powder were slowly carried forwards following the direction of the projecting laminae of the bone. On breaking open the maxillary sinus and trying its lining membrane in the same way, the impulsion seemed to be directed towards the back part of the cavity, where its opening is situated“. Sharpey hat also in diesem einzigen Falle beim Kaninchen ganz im allgemeinen zu beobachten geglaubt, daß die Flimmerbewegung der Schleimhaut in der Kieferhöhle rückwärts gerichtet sei, scheint aber auf jeden Fall eine Entfernung der Partikelchen aus der Höhle nicht direkt gesehen zu haben.

---

1) Todd's Cyclopoedia of anatomy and physiology. London 1836. p. 632.

Von Interesse wäre hier ferner, zu untersuchen, wie es sich mit der Tätigkeit der Flimmerzellen in den von der Höhlenöffnung distalen Gebieten verhält, wo dieselbe für das bloße Auge immer schwerer oder gar nicht wahrzunehmen ist. Nach dieser Richtung behalte ich mir weitere Untersuchungen vor.

Lund, Schweden, 8. November 1902.

Nachtrag. 22. Dez. Während der Drucklegung des Obenstehenden habe ich noch 5 ganz frische Leichen (innerhalb 1 Stunde nach dem Tode) zu untersuchen Gelegenheit gehabt. Auch bei diesen haben sich die Sinus maxillaris und frontalis, in Uebereinstimmung mit den früher gewonnenen Resultaten, als völlig steril erwiesen.

---



# Virulenzunterschiede verschiedener Tuberkelbacillenkulturen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der Universität zu Kolozsvár. Direktor: Prof. Dr. K. Buday.]

Von Dr. **D. Veszprémi,** I. Assistent.

(Schluß,)

Unsere Experimente bestätigen nicht in allem die in vielen Beziehungen sehr wertvollen und ein großes Material umfassenden Beobachtungen von Vagedes. Wir können es nicht unterlassen, auf die Differenzen — wiewohl nur kurz — hinzuweisen. So behauptet beispielsweise Vagedes, daß die Dosen verschiedener Größe ein und derselben Kultur eine Miliartuberkulose verschieden heftiger Ausbreitung verursachen. Dieser Satz kann, wie leicht zu sehen, im allgemeinen nicht giltig sein, denn in je größerem Quantum resp. in je größerer Dosis eine recht virulente Kultur in den tierischen Organismus — natürlich direkt in den Blutstrom geimpft — gelangt, eine desto weniger verbreitete Tuberkulose wird sie hervorrufen, da doch die Toxine das Tier viel rascher töten, als sich die Tuberkel entwickeln könnten. Im Gegenteil kann, wenn dieselbe recht virulente Kultur verdünnt und in geringerem Quantum in den Blutstrom geführt wird, die Verbreitung, Ansiedelung und Vermehrungsfähigkeit der Bacillen im Organismus um so eher zur Geltung kommen, da das Tier nicht so rasch innerhalb so kurzer Zeit zu Grunde geht. Unter solchen Umständen wird das Resultat eine tatsächlich verbreitete Tuberkulose sein. Von einer minder virulenten Kultur ist es eher zu erwarten, daß sie in geringerem Quantum eine mindergradige, umschriebene Tuberkulose hervorruft, als von einer in größerem Quantum eingeimpften, im welchem Falle sie mehr Kraft zur Entfaltung ihrer Wirkung besitzt. Dafür sprechen sowohl die zwischen den beiden Serien unserer Versuche merklichen Unterschiede als auch die Impfungen mit Kultur C. Seine Beobachtung ferner, daß eine Gewichtsdifferenz von einigen 100 g auf das Resultat der Infektion von keinem wesentlichen Einfluß sei, wird — damit wir nur eines erwähnen — durch unsere Kultur A widerlegt, die trotz ihrer schwachen Virulenz Tiere kleineren Gewichtes tötete und sich bei Tieren größeren Gewichtes in dieser Hinsicht als wirkungslos erwies. Wir können auch

die Einteilung nach der Virulenz der verschiedenen Kulturen nicht acceptieren, wodurch die Intensität und Verbreitung der Tuberkelbildung vom Quantum der geimpften Kultur abhängig gemacht wird. Denn es ist zwar richtig, daß, wenn $^1/_8$—$^1/_4$ mg Kultur in die Blutbahn geimpft wird und binnen 1 Monat allgemeine Miliartuberkulose entsteht, dadurch eine große Virulenz bezeugt wird, doch kann die zweite Klasse der Virulenzskala von Vagedes nicht acceptiert werden, wonach $^1/_4$ mg der dem Blutstrom einverleibten Kultur bloß in den Lungen, 10 mg derselben Kultur hingegen auch eine allgemeine Tuberkelbildung verursachen könne. Bei Kulturen von zumindest mittelmäßiger Virulenz — wie sie Vagedes nennt — wohin wir Kultur G und D der unsrigen zu rechnen haben, haben wir diese Erfahrung nicht gemacht. Denn wenn wir ein größeres Quantum eingeimpft hatten, erhielten wir eben wegen des rasch erfolgten Verlaufes der Infektion keine allgemeine Tuberkulose; bei geringerem Quantum wohl. Diese zweite Klasse kann eher auf Kulturen geringer Virulenz Anwendung finden. Wenn wir die Einteilung von Vagedes acceptieren würden, dann wären die Verschiedenheitsgrade der Virulenz derart beschränkt, daß darin solche Kulturen nicht einzureihen wären, die keine derartige Wirkung entfalten, wie wir sie bei den sehr virulenten Kulturen sehen können, denn das Resultat der mit denselben erfolgten Infektion gleicht ebenfalls demjenigen der virulentesten Kultur mit dem Unterschiede, daß das Tier durch das bereits erwähnte Quantum nicht getötet wird und die Vermehrung, das Wachstum der Tuberkel und die Verbreitung derselben im ganzen Organismus mehr Zeit erfordert, als es bei jenen der Fall ist. Eine sehr scharfe Grenze kann daher zwischen der Virulenz der verschiedenen Kulturen nicht gezogen werden, und um die bemerkbaren Unterschiede festzustellen und die einzelnen Kulturen nach diesen Unterschieden einteilen zu können, genügt es nicht bloß, den Zeitraum und die allgemeinen, ganz besonders ins Auge fallenden anatomischen Veränderungen zu erwägen, sondern es müssen auch die Gewichtsverhältnisse, Entwickelung und das noch im Leben gegen die Infektion manifestierte Verhalten der Versuchstiere und eingehendst die pathologisch-anatomischen Veränderungen beachtet werden, und zwar bei den im gleichen Zeitraum am Leben gebliebenen Tieren. All das natürlich mit den nötigen und entsprechenden Kontrollversuchen in gehöriger Anzahl. Bei Beachtung dieser Umstände werden — unserer Erfahrung gemäß — selbst geringere Unterschiede unserer Aufmerksamkeit nicht entgehen, welche Umstände doch bei Bestimmung des Virulenzgrades, beim Vergleiche mehrerer Kulturen unbedingt nötig sind. Vagedes legte im allgemeinen bei seinen zahlreichen Experimenten gar kein Gewicht darauf, daß er mit ein und derselben Kultur unter gleichen Umständen und Bedingungen mehr als ein Kaninchen impfen soll; daß er die entwickelte Tuberkulose der mittels verschiedener Kulturen infizierten Tiere bei nach gleicher Zeit getöteten Tieren prüfe; ferner beachtete er nicht die Gewichtsverhältnisse der Tiere und namentlich die Gewichtsschwankungen nach erfolgter Infektion. Wohl sind die Virulenzunterschiede auch bei Außerachtlassung dieser Umstände zu erkennen, doch können solcherweise bloß die größeren Grade auffallen, wodurch wieder die Einteilung der Kulturen nach der Virulenz unmöglich wird. Unserer Ansicht nach ist es sehr schwer, eine Skala der Virulenz verschiedener Tuberkelbacillenkulturen aufzustellen, weil es erfahrungsgemäß keine solche allgemein geltende, übereinstimmende Bedingungen giebt, worauf jene fußen könnte. Es können nämlich weder das Quantum des

eingeimpften Stoffes, noch die Zeitdauer des Infektionsverlaufes und noch viel weniger die anatomischen Veränderungen oder andere Umstände als Basis genommen werden. Wir sind der Ansicht, daß, wenn in irgend einer Hinsicht eine gewisse Einheit nicht festzustellen ist, natürlicherweise darauf auch keine annehmbara Skala gebaut werden kann. Das gilt auch bezüglich der Virulenz der Bakterien, wobei es keinen absoluten Wert giebt, denn die Differenzen stets relativen Wertes können durch Vergleich der einzelnen Kulturen miteinander gewonnen werden. Auf Grund des Resultates unserer Versuche können wir auch nicht klassifizieren, um den Virulenzgrad unserer Kulturen demgemäß zu bestimmen, es kann höchstens eine gewisse Reihenfolge festgestellt werden.

Wenn wir auch von den beiden Král'schen Kulturen absehen und bloß die Resultate der mittels frisch gezüchteter Kulturen erfolgten Impfungen vergleichen, so sind selbst dann die Differenzen derart auffallend und zeigten sich sowohl bei den einzelnen Versuchsgruppen als auch während der beiden Serien derart konstant, daß wir als unsere Ueberzeugung aussprechen können: Die aus verschiedenen Fällen menschlicher Tuberkulose — und zwar Lungentuberkulose — frisch gezüchteten Tuberkelbacillenkulturen zeigen, was die Virulenz betrifft, entschiedene und deutlich zu erkennende Unterschiede.

Diese Virulenzunterschiede gelangen bei Kaninchen, nicht bloß im Wege einer Infektion in den Blutstrom, sondern auch unter die Haut infiziert, zur Geltung, wenn auch auf letztere Weise weniger ausgesprochen. Es müssen von unseren Kulturen A und B ausgeschaltet werden solche, die Jahre und viele Generationen hindurch auf verschiedenen künstlichen Nährböden gezüchtet wurden und daher mit den übrigen frisch gezüchteten Kulturen nicht in jeder Beziehung verglichen werden können. Die geringe Virulenz resp. der Mangel einer Virulenz dieser beiden Kulturen bestätigt die Erfahrungen (Löte, Krompecher), daß die längere Zeit hindurch geübte Züchtung auf künstlichen Nährböden die Virulenz der Tuberkelbacillen bedeutend abzuschwächen oder auch vollständig zu vernichten vermag.

Auf Grund unserer Erfahrungen wollen wir nur eine Skizze dessen geben, wie sich die .Tuberkelbacillen kleinerer und größerer Virulenz verhalten, wenn sie in den Blutstrom gebracht werden. Diesbezüglich wurde gefunden, daß bei avirulenter Kultur die Bacillen sozusagen spurlos verschwinden. Bacillen schwacher Virulenz verschwinden wohl ebenfalls, in größerer Anzahl jedoch können sie bereits Tuberkel erzeugen, die aber nicht verkäsen und sich teilweise auch zurückbilden (Kultur A). Bei mittelmäßiger Virulenz erzeugen ebenfalls nur eine große Anzahl von Bacillen Tuberkel, doch können sich darin die Bacillen vermehren, eine Verkäsung verursachen; eine toxische Wirkung fehlt oder sie ist geringen Grades (Kultur G und D). Selbst wenige Bacillen starker Virulenz können schon Tuberkel verursachen, die Bacillen vermehren sich, rufen eine ausgesprochene und verbreitete Verkäsung hervor und entfalten ferner eine stark toxische Wirkung. Sie besitzen eine ziemlich große Fähigkeit zur Verbreitung und überschwemmen den Organismus (Kultur H, E etc.).

Es dürfte vielleicht von Interesse sein, wenn wir noch kurz auch erwägen, welche Fälle uns jene Kulturen lieferten, die die schwersten Veränderungen hervorriefen, ferner wie jene Fälle in Bezug auf den klinischen

Verlauf, auf die pathologisch-anatomischen Veränderungen beschaffen waren, denen unsere Kulturen geringer Virulenz entstammen. Wenn wir auf die Abstammung unserer Kulturen zurückblicken, so finden wir, daß die Kulturen H und C solchen Kranken entstammen, bei denen die Tuberkulose ganz frisch — als terminale Krankheit — auftrat, bei ausgeprägter Nekrose des Lungengewebes mit nicht narbigen, zerstreuten, verkästen Tuberkeln. Kultur E entstammt einem Falle einer akuten Tuberkulose rapiden Verlaufes, bei der die Ueberschwemmung des Organismus mit Tuberkeln auffallend ist. Kultur F wurde aus einem Falle einer schweren kaseosen Pneumonie gezüchtet. Kultur G hingegen wurde aus der Lunge eines Individuums rein gezüchtet, bei dem nach erfolgter Operation einer Jahre hindurch bestehenden Gonitis tuberculosa allgemeine Tuberkulose aufgetreten war. Am meisten Interesse erweckend ist der die Kultur D liefernde Fall, weil in diesem eine stark ausgeprägte narbige Schrumpfung seitens der Lungenspitzen vorgefunden wurde und selbst die Solitärtuberkel von einem minder breiten narbigen Hofe umgeben waren. Es war daher im allgemeinen ein gutartiger Fall mit zur Genesung neigenden Symptomen. Diese Umstände — wir verweisen auf jenen Teil, der die Abstammung unserer Kulturen behandelt — scheinen darauf hinzudeuten, daß unsere virulentesten Kulturen solchen Fällen entstammen, die tatsächlich von einem an ganz frischer, beginnender oder rasch verlaufender Tuberkulose leidenden Individuum herrühren, während unsere minder virulenten Kulturen im allgemeinen aus gutartigen, zur Vernarbung geneigten Fällen langsamen Verlaufes gezüchtet wurden. Die diesbezüglichen Erfahrungen von Vagedes — einige Kulturen betreffend — sind unseren Befunden sehr ähnlich. Trotz alledem wollen wir aus den obenerwähnten Umständen dennoch keine bestimmten, sicheren Schlußfolgerungen ziehen. Und zwar deshalb nicht, weil die Zahl der Fälle, die uns die Kulturen lieferten, zu gering ist, und weil wir nur dann eine sichere Grundlage gewinnen könnten, wenn wir die Gelegenheit gehabt hätten, viele derartige Fälle zu vergleichen, die in jeder Beziehung große und ausgeprägte Unterschiede aufweisen, sowohl hinsichtlich des Krankheitsverlaufes, als auch der Begleiterscheinungen und anatomischen Veränderungen, besonders wenn wir diesen Differenzen gemäß gleichsam im vorhinein ausgewählte Fälle behufs Gewinnung der Kulturen hätten benützen können.

Nichtsdestoweniger müssen wir es für sehr wahrscheinlich halten, daß die Virulenz unserer Tuberkelbacillenkulturen nicht infolge der Reinzüchtung sich änderte, sondern daß diese Eigenschaft der Bacillen schon ursprünglich vorhanden war. Darin werden wir außer durch unsere Befunde auch durch Erfahrungen von Vagedes und anderer Autoren (Arloing, Courmont und Denis, Perez) bestärkt, daß die aus den Fällen von Knochentuberkulose und Skrofulose gewonnenen Tuberkelbacillenkulturen im tierischen Organismus im allgemeinen eine tuberkulöse Erkrankung gelinden Verlaufes und nicht schwere Veränderungen verursachen. Soviel kann aber dennoch behauptet werden, daß, möge nun die Erforschung der experimentellen Tuberkulose vom Standpunkte der pathologisch-anatomischen und histologischen Veränderungen, der klinischen Symptome oder auch hauptsächlich der Therapie geschehen, unbedingt berücksichtigt werden muß, was für Fälle von Tuberkulose behufs Gewinnung der Reinkulturen benützt wurden.

---

An dieser Stelle muß noch einiger Impfungen Erwähnung gethan werden, die bedeutend später nach Abschluß der skizzierten Versuche mit zwei ebenfalls frisch gezüchteten Kulturen angestellt wurden. Diese sind hauptsächlich deshalb erwähnenswert, weil sie mit dem Resultate der vorherigen Experimente übereinstimmen und weil sie zur Bestätigung der daraus gezogenen Schlüsse geeignet sind.

Es wurden nämlich nachträglich noch aus 2 Fällen Reinkulturen gezüchtet. Die eine Kultur — I — entstammt einem Falle, wo die Diagnose nicht auf Tuberkulose, sondern auf Pneumonia interst. chron. lautete. Bei diesem fanden wir in der linken Lungenspitze einen erbsengroßen, zwischen zähe Narben eingebetteten tuberkulösen Herd, der zum Teil von weicher Konsistenz, zum Teil fest, mörtelartig war. Die zweite Kultur — K — entstammt einer ausgesprochenen Lungentuberkulose, bei der die klinischen Daten resp. auch der anatomische Befund einen raschen Krankheitsverlauf und eine ziemlich schwere Zerstörung des Lungengewebes ermittelten.

Auf Grund der aus den bisherigen Versuchen gewonnenen Erfahrungen und mit Rücksicht auf die Fälle, denen unsere neuen Kulturen entstammen, wurde bereits von Anfang an eine schwächere Virulenz der Kultur I vorausgesetzt; eine stärkere Virulenz hingegen und folglich eine schwerere, rapide Erkrankung verursachende Wirkung wurde der Kultur K zugemutet.

Wenn wir die Resultate unserer Impfungen betrachten, so kommen wir zu dem Resultate, daß die mittels Kultur I geimpften Tiere trotz des bedeutenden Quantums eingeführten Stoffes relativ ziemlich lange am Leben geblieben sind. Der Gewichtsverlust ist wohl ein ziemlich bedeutender, doch erfolgte er allmählich, nicht rapid. Die Tuberkelbildung kann durchaus nicht eine intensive genannt werden, weil bloß in den Lungen und auch hier in geringer Anzahl, Tuberkel vorhanden waren und histologisch in den Tuberkeln ausgeprägte Verkalkung gefunden wurde. Die mittels Kultur K geimpften Tiere verendeten innerhalb 14—17 Tagen bei rapidem, beträchtlichem Gewichtsverluste, obwohl es besser entwickelte Tiere größeren Gewichtes waren und trotzdem sie mit bedeutend weniger Stoff infiziert wurden. Bei beiden Kaninchen bildeten sich in den Lungen sehr reichlich Tuberkel mit vielen Bacillen und innerhalb verhältnismäßig kurzer Zeit konnte bereits in den Nieren Tuberkelbildung konstatiert werden. Kultur I verursachte daher in großem Quantum bei Tieren geringen Gewichtes eine in jeder Beziehung gelind abgelaufene Erkrankung mit relativ unbedeutenden anatomischen Veränderungen. Kultur K jedoch richtete mit weniger Material geimpfte Tiere größeren Gewichtes in kürzerer Zeit zu Grunde und war im allgemeinen zum Hervorrufen einer rapid verlaufenden, schweren Erkrankung geeignet.

Wir wollen an diese nachträglichen Experimente keine langwierigen Erörterungen knüpfen, sondern bloß betonen, daß auch durch diese neueren Impfungen die Erfolge unserer vorhergehenden Versuche in jeder Beziehung bekräftigt werden. Hinsichtlich der Virulenz wird daher Kultur I durch Kultur K weit übertroffen; und während letztere neben Kultur C gestellt werden kann, gleicht erstere der Virulenz von Kultur D. Doch sehen wir auch unsere Annahme bestätigt, da wir gleich von Anfang an Kultur K für virulenter hielten als Kultur I.

Kolozsvár, Oktober 1902.

---

# Zur Kenntnis der Rattenpest[1]).

[Aus der Odessaer bakteriologischen Station.]

Von **T. Skschivan.**

Es besteht wohl zur Zeit kein Zweifel, daß die Ratten eine große Rolle bei der Uebertragung der Pestinfektion spielen. Aus diesem Grunde lassen sich von verschiedenen Seiten Stimmen hören, welche verlangen, daß die Frage der Rattenvertilgung auf Schiffen zum Gegenstande einer internationalen Uebereinkunft werden solle. Die Sanitätsverwaltung der Hafenstädte begnügt sich im allgemeinen nicht mehr mit einer Ausführung der bereits durch internationale Konvention bestätigten Quarantänemaßregeln, sondern lenkt besonders ihre Aufmerksamkeit auf die Schiffsratten. Dank dieser Vorsicht wurden schon mehrmals Pestratten auf Schiffen gefunden, welche aus pestfrei erklärten Orten kamen, in denen allerdings früher Pestfälle konstatiert worden waren. Mit der Anhäufung von Beobachtungen über die Rattenpest wurde ferner ermittelt, daß nicht immer eine Pestepizootie der Schiffsratten entsprechende Erkrankungen beim Menschen hervorruft, und daß sogar der Entwickelungsgang und der Verlauf der Rattenepizootie im Osten nicht immer der Epidemie entspricht. Dennoch muß der allgemeine oben ausgesprochene Standpunkt sein volles Recht behalten, und die Mühe, welche die Sanitätsverwaltung auf die Untersuchung und Vernichtung der Schiffsratten sowie auf die Durchführung der ziemlich lästigen Quarantänemaßregeln verwendet, nicht gescheut werden.

Immer häufiger haben die bakteriologischen Laboratorien in den Hafenstädten die Frage zu beantworten, ob nicht Pestratten mit diesem oder jenem Schiffe hereintransportiert worden sind. Die Aufgabe ist nicht immer leicht zu lösen: In den meisten Fällen muß die Untersuchung an nicht mehr frischem Materiale vorgenommen werden — und eine rasche Antwort wird in allen Fällen verlangt. Die Aufgabe des Bakteriologen wird ferner durch den Umstand erschwert, daß die Rattenpathologie bisher noch sehr wenig bearbeitet worden ist. Speziell ist noch eine Frage von großer Wichtigkeit zu beantworten, ob nämlich unter den Ratten eine selbständige, dem klinischen und pathologischen Bilde der Pest ähnliche Erkrankung vorkommt, welche durch pestähnliche Bakterien hervorgerufen wird. Andererseits tragen die in der Litteratur vorhandenen Mitteilungen über spontane Rattenpest einen sehr unklaren Charakter. Die meisten Autoren begnügen sich mit dem Hinweise auf den Befund von Pestbacillen in den Organen der Ratten. Am ausführlichsten sind noch die Angaben in der klassischen Arbeit von Müller, Albrecht und Ghon (1), welche 8 Pestratten „gewöhnlicher grauer Art“ zu sezieren und zu untersuchen Gelegenheit hatten.

Es dürfte deshalb von Interesse sein, das allerdings nicht mit gewünschter Vollständigkeit ausgearbeitete Material, die systematische Untersuchung der Ratten auf der bakteriologischen Station in Odessa in der Zeit vom 7. November 1901 bis 11. Mai 1902 betreffend, der Oeffentlichkeit zu übergeben.

1) Nach Vorträgen in der Gesellschaft russischer Aerzte in Odessa am 3. Dezember 1901 und 16. März 1902.

Den Anstoß zu diesen Untersuchungen gaben zwei Pestfälle, die Mitte und Ende Oktober 1901 hier auftraten und tödlich endeten.

Die Aetiologie dieser Fälle blieb unaufgeklärt — bei den lebhaften Beziehungen zu den Häfen des Mittelmeeres ist selbstverständlich trotz der Quarantäne, welcher die Schiffe aus den verseuchten Gegenden in Theodosia unterworfen waren, ein Einschleppen des Pesterregers sowohl durch Menschen wie Ratten nicht ausgeschlossen.

Beide Fälle stellen die gewöhnliche Form der Bubonenpest dar — der erste mit einem primären Karbunkel. Ich will nur über den ersten Fall etwas näher berichten, weil er einige Schwierigkeit in Bezug auf die Diagnose darbot und der Verdacht der Pesterkrankung erst nach der Sektion ausgesprochen wurde. Zur bakteriologischen Untersuchung wurde mir nur eine 1-tägige Agarkultur übergeben, welche von der bereits in Fäulnis begriffenen Milz des Verstorbenen angelegt war. Die Kultur war sehr verunreinigt und enthielt in einzelnen Exemplaren „Kügelchen“, der Form und Färbung nach den Peststäbchen ähnlich. Der Versuch, dieselben mittels Plattenkultur — bei Zimmertemperatur und im Thermostaten — zu isolieren, mißlang. Die subkutane Infektion einer weißen Ratte und eines Meerschweinchens verursachte den Tod durch Pneumokokkeninfektion. Eine Reinkultur zu erhalten und den Pestcharakter der Erkrankung zu beweisen, gelang erst nach der Oesterreichischen Methode mittels Einreibung der 1-tägigen Kultur in die rasierte Bauchhaut des Meerschweinchens. In diesem Falle äußerte sich ganz evident die Elektivität dieser Methode der Pestinfektion, auf welche Albrecht und Ghon mit gutem Rechte hingewiesen haben (ich werde unten auf die Bedeutung dieser Methode noch näher eingehen).

Bei der Desinfektion des Hauses, in welchem der zweite Pestkranke wohnte (das Haus befindet sich am Zollamte in nächster Nachbarschaft des Hafens), wurden tote Ratten gefunden und mir zur Untersuchung übergeben. Bei denselben konnte Pest konstatiert werden. Von diesem Moment an wurde seitens der Sanitätsverwaltung unter Dr. Gamaleia's spezieller Leitung eine systematische Rattenvertilgung angestrebt, für jede Ratte wurde eine Prämie bestimmt, es wurden spezielle Einrichtungen für Verbrennen der Ratten etc. getroffen. Die Rattenpest siedelte nunmehr, wie konstatiert wurde, in den Hafen über, woher uns vorwiegend das Untersuchungsmaterial gebracht wurde. Von der großen Menge der in Odessa vernichteten Ratten (ca. 40000) konnte nur ein Teil untersucht werden, und zwar:

| | | Aus der Stadt | Aus dem Hafen | Aus den Schiffen | Zusammen |
|---|---|---|---|---|---|
| im November | 1901 | 59 | 64 | 1 | 124 |
| „ Dezember | 1901 | 41 | 145 | 1 | 187 |
| „ Januar | 1902 | 59 | 449 | 57 | 565 |
| „ Februar | 1902 | 123 | 266 | 260 | 649 |
| „ März | 1902 | 229 | 240 | 86 | 555 |
| „ April | 1902 | 68 | 49 | 23 | 140 |
| „ Mai | 1902 | 1 | 23 | 8 | 32 |
| | Zusammen | 580 | 1236 | 436 | 2252 |

Das Material wurde der Station natürlich unregelmäßig überbracht; an einigen Tagen mußten mitunter ca. 90 Ratten seziert werden, von denen die meisten sich schon im Zustande starker Fäulnis befanden. Dies möge uns zur Entschuldigung dienen, wenn wir nicht ausführlicher auf das pathologisch-anatomische Bild der sezierten Pestratten eingehen.

Bei der Untersuchung wurden folgende Punkte berücksichtigt:

1) Welcher Art die untersuchten Ratten waren,

2) welche Erkrankungen überhaupt bei Ratten vorkommen,

3) ob sich nicht der Pest ähnliche Erkrankungen bei den Ratten vorfinden.

Den Hauptgegenstand der Untersuchung bildete selbstverständlich die Pest, und so versuchten wir

4) das pathologisch-anatomische Bild der Rattenpest zu beschreiben und

5) die von den Ratten erhaltenen Kulturen mit den Pestkulturen zu identifizieren.

## I. Die Abarten der Ratten.

Aus dem Materiale, welches uns zur Verfügung stand, läßt sich bezüglich der Verteilung der verschiedenen Rattenarten folgendes schließen: In der Stadt lebt beinahe ausschließlich die Wanderratte (Mus decumanus); in dem Hafen gesellen sich zur Mus decumanus zwei andere Arten hinzu, Mus rattus und Mus alexandrinus, welche fast ausschließlich die Bewohner der Schiffe des In- und Auslandes repräsentieren. Beiden Arten begegnet man auf den Schiffen meistenteils gleichzeitig. Auf Frachtschiffen, welche länger im Hafen liegen, begegnet man gewöhnlich (aber nicht beisammen) allen drei Arten. Die Rolle des Pestüberträgers auf Schiffen übernimmt somit am wahrscheinlichsten die schwarze und die alexandrinische Ratte; daß dieselbe unter natürlichen Verhältnissen für Pest empfänglich sind, werden wir weiter unten sehen.

## II. Die Krankheiten der Ratten.

Mus decumanus, die Bewohnerin der Bodenräume, der Ausflüsse etc., ist am meisten von verschiedenen parasitären Erkrankungen heimgesucht. Besonders reiches Material stellt sie für die Helminthologie dar; sowohl im Darme wie in der Leber und den Lungen („verminöse Pneumonieen") begegnet man verschiedenen Würmern.

Dank der Liebenswürdigkeit des Dr. Chenzinski bestimmten wir eine Wurmart als Taenia murina; dieselbe wurde im Darme aufgefunden, häufig trifft man Embryonen oder ganz entwickelte Exemplare auch in der Leber in Form von Cysten. Als zweiter, ziemlich häufiger Krankheitsprozeß muß die Coccidienerkrankung der Leber genannt werden. Sehr häufig leiden ferner die grauen Ratten an Bubonen, sowohl peripheren als mesenterialen. Unter den Ratten aus der Stadt, wo keine Pest vorhanden war, wurden die letzteren sogar häufiger angetroffen als unter den Ratten im Hafen. Die peripherischen Bubonen sind entweder harte oder erweichte. Nach den Untersuchungen von Dr. Stefansky wurden die ersteren größtenteils durch ein säurefestes Stäbchen hervorgerufen und werden meistens von einer Hauterkrankung begleitet, die sich durch Infiltrate oder sogar durch den ganzen Körper bedeckende Ulcerationen kenntlich macht. Die Untersuchung über diese sehr interessante Bakterienart, welche bei Mus decumanus etwa in 5 Proz. vorkommt, wird zur Zeit von Dr. Stefansky ausgeführt (2). Die erweichten peripherischen Bubonen waren entweder steril oder enthielten Bakterien, welche morphologisch keinen Anlaß zur Verwechselung mit Pestbacillen gaben. Außer den genannten säurefesten Bakterien sind von mir aus einem Leberabscesse bei Mus decumanus und aus einem fibrinösen pleuritischen Exsudate zwei Arten, zur Gruppe der der

Corynebakterien gehörig, isoliert worden, welche eine partielle Säurefestigkeit besitzen. Die Untersuchung der ersten Bakterienart ist von Dr. Olschanetzki ausgeführt und in diesem Centralblatte publiziert (3).

Mesenteriale Bubonen werden bei M. decumanus sehr häufig angetroffen; die Milz ist gewöhnlich vergrößert und induriert. Es handelt sich hierbei wahrscheinlich um einen chronischen Prozeß. Dieser Bubo unterscheidet sich vom experimentellen bei Fütterungspest dadurch, daß er markartig infiltriert ist, ohne Blutextravasate; die Form des Bubo, welcher kirschkerngroß ist, ist rund; offenbar ist bloß eine Drüse affiziert. Bei der Fütterungspest dagegen fließen die mesenterialen Bubonen meistenteils zu einem harten, dicken Streifen zusammen, dieselben sind hämorrhagisch durchtränkt. Die bei diesen Prozessen aufgefundenen Bakterien haben nichts mit der Pest zu tun.

Diese Angaben beziehen sich nur auf die grauen Ratten. Die übrigen Arten sind seltener von parasitären Erkrankungen ergriffen. Würmer finden sich selten, Coccidiose ziemlich häufig; letztere wurde einmal als ziemlich verbreitete Epizootie auf einem Inlandschiffe unter fast sämtlichen Ratten (Mus rattus und Mus alexandrinus) konstatiert. Trypanosomen wurden bei allen drei Arten gefunden.

## III. Die pestähnlichen Erkrankungen der Ratten.

Je mehr Ratten wir untersuchten, desto häufiger stießen wir auf Fälle, in denen bei scheinbarer Aehnlichkeit des Krankheitsbildes mit der Pest die Strichpräparate, Kulturen und Impfungen an Meerschweinchen ein negatives Resultat ergaben. In der Reihe dieser Beobachtungen, welche uns viel Zeit und viele Versuchstiere kosteten, verdienen besonders jene Fälle Erwähnung, in denen den Peststäbchen morphologisch ähnliche Bakterien im Ausstrichpräparate gefunden wurden. Fanden sich bei solchen Ratten außerdem vereiterte Bubonen mit Metastasen in inneren Organen (Nieren) oder eine große hyperämische, von Knötchen durchsetzte Milz, so erscheint es begreiflich, daß wir die Diagnose, ob Pest vorliegt oder nicht, erst nach Untersuchung der angelegten Kulturen stellen durften. Die in diesen Fällen isolierten Bakterien erwiesen sich als zur Gruppe B. mucosa capsulata (2 Arten) mit charakteristischem Wachstume auf Agaragar, andere Bakterien hingegen wegen ihrer Gasbildung, Beweglichkeit etc. zur Gruppe des Bacterium coli gehörig. Ueber diese Bakterien gedenke ich später ausführlich zu berichten, ich möchte hier nur noch einmal betonen, daß in vielen Fällen ein Irrtum nicht ausgeschlossen erscheint, wenn man die Diagnose nur nach dem pathologisch-anatomischen Bilde und dem Ausstrichpräparate stellen wollte.

## IV. Pestratten.

Innerhalb der Stadt wurden Ratten nur in dem Hause gefunden, in welchem der zweite Pestfall vorgekommen war. Das Haus befindet sich an der Grenze des Hafenterritoriums. Nach der ersten Reinigung und Desinfektion dieses Hauses fanden sich keine Pestratten mehr daselbst. Auch unter dem Materiale, welches uns von den Schiffen zugestellt wurde, konnten Pestratten nicht aufgefunden werden. Nichtsdestoweniger rief dieser erste Rattenpestherd eine Epizootie unter den Ratten des Hafens hervor, welche wir bis zum 31. März 1902 verfolgen konnten; im April und im Mai (bis zum 10.) konnten wir Pestratten nicht mehr finden, später wurden die Untersuchungen abgebrochen.

Wir bringen weiter unten in chronologischer Folge die Befunde von Pestratten; vorläufig sei bemerkt, daß die Pestepizootie unter den Ratten die ganze Zeit hindurch ziemlich begrenzt war. Nur einmal wurde von den Hafenbewohnern behauptet, daß sie Ratten wackelnd herumlaufen und vor ihren Augen niederfallen gesehen hätten — von diesen Ratten gelangte nur eine in einem zur Untersuchung noch tauglichen Zustande zur Obduktion, und es konnte bei ihr Pest festgestellt werden. Alle übrigen Pestbefunde betreffen einzelne Exemplare. Einige Garantie, daß wirklich die meisten im Hafen verstorbenen Ratten gefangen und uns zugestellt wurden, hatten wir dadurch, daß für jede Ratte eine Prämie von 10 Kopeken gezahlt wurde. Somit können wir sagen, daß die unten angegebenen Zahlen, wenn auch nur annähernd, den wirklichen Verhältnissen der Pestfälle unter den Ratten entsprechen, selbstverständlich außerhalb ihrer Nester.

Was die Verteilung in den einzelnen Hafenterritorien betrifft, so wurden Pestratten anfangs im ganzen Auslandshafen gefunden, darauf konzentrierte sich die Epizootie, wie es scheint, im Gebiete des Platonowschen und Neuen Quais, darauf nur an dem Neuen Quai, wo besonders aus den Packhäusern zweier Schiffsgesellschaften uns Ratten zugestellt wurden. Ob die Epizootie auch auf andere Hafenteile übergegangen ist, läßt sich schwer sagen, da uns mehrmals Pestratten zugingen, deren Herkunft unbekannt blieb.

Wir lassen nunmehr die Aufzählung der Pestratten folgen:

| | Monat | Zahl und Art | Fundort |
|---|---|---|---|
| 1.—2. | November | 14 Decumanus | Haus No. 3 am Zollamte |
| 8. | „ | 3 „ | Quarantänequai |
| 18. | „ | 1 „ | Hafen |
| 19. | „ | 1 „ | Neuer Quai |
| 24. | „ | 4 „ | Hafen |
| 30. | „ | 1 Alexandrinus | Platonows Quai |
| 18. | Dezember | 1 Decumanus | Neuer Quai |
| 19. | „ | 1 „ | Hafen |
| 28. | „ | 1 Alexandrinus | Neuer Quai |
| 7. | Januar | 1 Decumanus | Hafen |
| 9. | „ | 1 „ | Neuer Quai |
| 23. | „ | 1 Alexandrinus | Platonows Quai |
| 22. | Februar | 1 Rattus | „ „ |
| 31. | März | 1 Decumanus | Neuer Quai |
| | Zusammen | 32 Ratten, davon 1 Rattus, 3 Alexandrinus, 28 Decumanus. | |

Aus dieser Tabelle erhellt, daß nicht nur M. decumanus, sondern auch M. rattus und M. alexandrinus unter natürlichen Verhältnissen von der Pest befallen werden. Wir betonen diese Thatsache, weil in der betreffenden Litteratur (4) die Vermutung ausgesprochen wird, daß M. rattus für die Pest weniger empfänglich ist.

## V. Die Sektionsergebnisse der Pestratten (s. Tab. p. 265—267).

Im allgemeinen entspricht das Sektionsbild dem der akuten Septikämie mit mehr oder weniger stark ausgesprochenem hämorrhagischen Charakter. Am häufigsten finden sich die Hämorrhagieen in der Lunge und der Pleura, die Lungen sind stets hyperämisch, in den Pleurahöhlen findet sich zuweilen ein trübes Exsudat.

Die Leber ist stets vergrößert, blutreich und findet sich in verschiedenen Stadien der parenchymatösen und fettigen Degeneration; ziemlich häufig trifft man kleine, runde, nekrotische Herde, die durch

| Datum | Rattenart. Sektionsergebnisse. Kulturen | Meerschweinchenimpfung |
|---|---|---|
| 1901 1.—2. Nov. | 14 Decumanus in starker Fäulnis. Die Sektion konnte nur sehr oberflächlich geschehen. Bei allen stark vergrößerte hyperämische Milz. Lungen hyperämisch, mit subpleuralen Blutungen, zuweilen auch mit Herden lobulärer Pneumonie. Strichpräparate aus den Milzen: Spärliche Peststäbchen, verschiedene Bakterien; Lungen: Peststäbchen nur schwer aufzufinden. Kulturen nicht angelegt. | Kutan 2 Tiere geimpft mit 2 Milzen (Meerschw. No. 5 u. 6).<br>M. No. 5 nach 5 Tagen getötet: Inguinalbubo. Vergrößerte blutreiche Milz. Strichpräparate und Kulturen positiv (Kultur I).<br>M. No. 6 † nach 7 Tagen: Gelatinöse Infiltration an der Impfstelle, hämorrhagischer Inguinalbubo beider Seiten. Milz vergrößert, mit Knötchen besät. Strichpräparate und Aussaaten positiv (Kultur II). |
| 8. Nov. | 3 Decumanus.<br>Milz sehr stark vergrößert, hyperämisch, hart. Leber, Niere parenchymatös. Strichpräparate in 2 Milzen: Sehr viel Peststäbchen, typisch, gut färbbar. In der 3. Milz: Wenig Stäbch., schlecht färbbar. Keine Kulturen gemacht. | M. No. 7, kutan mit der 3. Milz geimpft, erkrankt am 3. Tage, am 7. wieder munter. Getötet am 21. Tage. Befund und Kulturen negativ. |
| 18. Nov. | 1 Decumanus.<br>Kolossale, ca. 15mal vergrößerte Milz, mit großen u. kleinen weißen Knoten besetzt; in der fettdegenerierten Leber punktförmige nekrotische Herde. Strichpräparate: Viel Stäbchen in den Milzknoten; Leber wenig Stäbchen. Aussaaten: Blut steril; Leber wenig Kolonieen; Milzknoten reiche Kultur (III). | M. No. 8. Milzemulsion subkutan unter die Bauchhaut. † nach 5 Tagen. Etwas Eiter an der Impfstelle. Mesenterieller Bubo. Milz wenig vergrößert, von erhabenen Knoten durchsetzt; in der Leber nekrotische Knötchen. Strichpräparate und Aussaaten positiv (Kultur III). |
| 19. Nov. | 1 Decumanus.<br>Große Milz, von großen und kleinen Knoten besät. Retroperitonealdrüsen vergrößert, hyperämisch. Strichpräparate: Keine Peststäbchen in der Leber und den Bubonen; in der Milz sind die Stäbchen nur in den Knoten vorhanden. Aussaat: Leber und Blut steril; Milz vereinzelte Kolonieen am 3. Tage (Kultur IV). | — |
| 24. Nov. | 1 Decumanus.<br>Alle Organe aufgefressen; es bleibt nur ein Stück vergrößerter und hyperämischer Milz. Strichpräparate: Peststäbchen in geringer Anzahl. Kulturen nicht gemacht. | M. No. 12, kutan geimpft. 28. Nov.: Das Tier ist erkrankt, 26. Dez.: erholt sich; getötet am 8. Dez. Befund normal, nur etwas gelatinöses Infiltrat an der Impfstelle und 2 Knötchen in der Milz. Strichpräparate aus dem Milzknoten positiv. Kulturen aus dem Infiltrate: Staphylococcus; aus den Milzknoten: Peststäbchen (Kultur V); Leber, Blut steril.<br>M. No. 13, mit Kultur V subkutan am Beine geimpft. † nach 3 Tagen. Inguinalbubo. Milz vergrößert, von Knötchen besät. Lungen hyperämisch, mit Extravasaten. Strichpräparate und Kulturen positiv. |
| | 3 Decumanus.<br>Bei 2 von ihnen nekrotische Knötchen in der Leber, bei der 3. Milzknoten. Ausstrichpräparate: Peststäbchen in geringer Anzahl. | M. No. 9, 10, 11, kutan geimpft. Getötet nach 15, 16 und 17 Tagen. Befund negativ. |

| Datum | Rattenart. Sektionsergebnisse. Kulturen | Meerschweinchenimpfung |
|---|---|---|
| 30. Nov. | M. alexandrinus. Milz blutreich, wenig vergrößert. Submaxillardrüsen vergrößert, hämorrhagisch. Die Bronchial-, Inguinal-, Mesenterial- u. Retroperitonealdrüsen vergrößert. In den Pleurahöhlen ein trübes Exsudat. Lungen hyperämisch, mit einem Blutextravasate. In der Leber punktförmige nekrotische Knötchen. Niere parenchymatös. Strichpräparate der Milz, Leber, Nieren, Submaxillar- und Bronchialdrüsen: Eine Unmenge Peststäbchen; in den Inguinaldrüsen: wenig Bacillen. Kultur: Reiches Wachstum aus dem Blut, der Leber und der Milz (Kultur VI). | M. No. 14, 1 Oese der Kultur subkutan am Beine, † nach 4 Tagen. Hämorrhagischer Inguinal- und Retroperitonealbubo. Knötchen in der Milz. Leber und Nieren parenchymatös. Strichpräparate und Kulturen positiv. |
| 18. Dez. | M. decumanus. Milz vergrößert, hyperämisch, weich; Leber stark vergrößert, blutreich; Lungen hyperämisch, mit Blutextravasaten. Die Bronchial-, Submaxillar- und Halsdrüsen vergrößert, hyperämisch. Strichpräparate aus der Leber und Milz: Viel Peststäbchen. Aussaaten: Blut, Leber, Milz reiche Kultur (VII). | M. No. 26, 1 Oese der Kultur subkutan am Beine, † nach 3 Tagen. Hämorrhagischer Inguinalbubo. Vergrößerte Milz mit einer Masse v. Knoten. M. No. 27, kutan mit der Kultur, † nach 6 Tagen. Hämorrhagischer Inguinal- und Retroperitonealbubo. Weiße Knoten in der Leber, Milz und Lungen. |
| 19. Dez. | M. decumanus. Leber und Milz vergrößert, blutreich. Lungen stark hyperämisch. Subpleurale Blutextravasate. Die Bronchial-, Submaxillar- und Retroperitonealdrüsen vergrößert, blutreich. Strichpräparate: Leber, Milz, Lunge sehr wenig Peststäbchen. Aussaaten: Leber, Milz, Blut Kultur (VIII) am 2. Tage. | — |
| 28. Dez. | M. alexandrinus. Rechter hämorrhagischer Inguinalbubo. Seröses Exsudat in den Pleurahöhlen. Lungen blutreich. Leber vergrößert, hyperämisch, ganz besät von kleinen, unregelmäßig geformten gelblichen Knötchen (Coccidiosis). Milz blutreich, vergrößert. Strichpräparate: Milz eine Masse Bacillen (haufenweise); Leber, Blut sehr wenig Bacillen; Pleuraexsudat sehr wenig Peststäbchen und Staphylokokken; Bubo Unmenge Peststäbchen. Aussaaten: Leber - Reinkultur (IX); Blut, Milz verunreinigt. | M. No. 33, 1 Oese subkutan am Beine, † nach 6 Tagen. Enormer rechter hämorrhagischer Inguinalbubo und kleiner links; alle anderen Drüsen vergrößert und blutreich. In der Milz und Leber viel Knötchen. Lungen hyperämisch, mit Blutextravasaten und von einem roten Saum umgebenen Knötchen. |
| 1902 7. Jan. | M. decumanus. Es fehlt der Kopf, die Milz, die Gedärme und die Nieren. Bronchialdrüsen vergrößert, blutreich, ebenso die rechte retroperitoneale. Leber vergrößert, mit nekrotischen Knötchen. Lungen hyperämisch. Ausstrichpräparate: Leber viele Peststäbchen. Aussaat aus der Leber: Reiche Kultur (X). | M. No. 38, mit der Kultur kutan, † nach 10 Tagen. Hämorrhagischer linker Axillar- und rechter Inguinalbubo. Leber, Milz, Lunge mit Knötchen besät. In den Pleurahöhlen ein trübes Exsudat. |

| Datum | Rattenart. Sektionsergebnisse. Kulturen | Meerschweinchenimpfung |
|---|---|---|
| 9. Jan. | M. decumanus. Durch einen Schlag getötet (Blutgerinnsel in der Pleurahöhle, Milz zertrümmert). Leber punktförmige nekrotische Knötchen. Linke Inguinaldrüse vergrößert, hyperämisch. Andere peripherische, Bronchial- und Mesenterialdrüsen sind vergrößert. Strichpräparate: Inguinalbubo sehr viele Peststäbchen; Leber, Milz, andere Drüsen wenig. Aussaaten: Blut, Leber, Milz positiv (Kultur XI). | M. No. 40 kutan mit der Kultur † nach 8 Tagen. Hämorrhagische Inguinalbubonen. Innere Drüsen vergrößert, hyperämisch. Knoten in der Leber und Milz, Lungen ödematös, blutreich enthalten 2 Knötchen. |
| 23. Jan. | M. alexandrinus. In der rechten Axilla ein großer hämorrhagischer Bubo mit Infiltration des umgebenden Gewebes und Vergrößerung der benachbarten Drüsen; die Mesenterial-, Bronchial- und Submaxillardrüsen sind vergrößert. Lungen ödematös, mit Blutextravasaten im Gewebe und unter der Pleura. Milz wenig vergößert, dunkelrot, von sehr kleinen Knötchen besät. Leber ist vergrößert, von gelblicher Farbe, mit kleinen nekrotischen Knötchen. Niere parenchymatös. Dünndarm hyperämisch. Strichpräparate: Eine Menge typischer Stäbchen im Bubo, in Organen weniger. Aussaaten: Blut und Leber Kultur am 2. Tage (Kultur XII). | M. No. 45 kutan mit der Kultur † nach 5 Tagen: Hämorrhagischer Inguinalbubo; Milz vergrößert, mit kleinen Knötchen.<br>M. No. 43 durch Einreibung der Kultur in die Nasenöffnung † nach 5 Tagen: Hämorrhagischer Mesenterialbubo; Magen und Dünndarm injiziert. Milz vergrößert, von kleinen Knötchen durchsetzt. |
| 22. Febr. | M. rattus. In den Pleurahöhlen viel trübes Exsudat. Lungen hyperämisch. Leber vergrößert, hart, von graulicher Farbe. Milz ein wenig vergrößert. Dünndarm hyperämisch. Drüsen ohne Veränderungen. Ausstrichpräparate der Milz sehr viel Peststäbchen; in der Leber, Milz, Lungen, Nieren Blut sehr wenig. Kulturen: Blut, Pleuraexsudat, Leber verunreinigt. | M. No. 61 kutan mit der Milz † nach 10 Tagen. Inguinalbubo. Nekrotische Knötchen in Leber und Milz. Strichpräparate und Kulturen (XIII) positiv. |
| 31. März | M. decumanus. Rechter axillarer hämorrhagisch-nekrotischer Bubo. Submaxillardrüsen geschwollen, gerötet. Lungen ödematös, hyperämisch. Leber, Milz vergrößert, blutreich. In der Leber Coccidienknötchen. Strichpräparate: Bubo, Leber, Milz sehr viel Stäbchen, Lunge, Niere wenig. Kulturen: Blut, Leber verunreinigt. | M. No. 65 subkutan am Beine mit Leberemulsion † nach 3 Tagen. Inguinalbubo. Milz vergrößert, ohne Knötchen. Strichpräparate und Kulturen (XIV) positiv.<br>M. No. 66 kutan mit derselben Emnlsion † nach 5 Tagen: Inguinalbubo, viel Knötchen in der Milz.<br>M. No. 67 dieselbe Emulsion in die Nasenöffnung eingerieben, getötet nach 20 Tagen; Befund und Kultur negativ.<br>M. No. 72, 300 g Gewicht, $^1/_{50}$ Oese einer 1-tägigen Agarkultur am Beine † nach 4 Tagen; typischer Befund.<br>M. No. 73, 320 g Gewicht, $^1/_{100}$ Oese derselben Kultur † nach 4 Tagen; typischer Befund. |

ihre weiße Farbe sich kenntlich machen (die Coccidienknötchen unterscheiden sich von diesen durch ihre gelbe Farbe und unregelmäßige Form).

Die Milz ist meistenteils unbedeutend vergrößert, von dunkelroter Farbe; nekrotische Herde findet man viel seltener als in der Leber. Eine enorme Milzvergrößerung fand sich nur bei den Wanderratten, welche im Oktober aufgefunden wurden.

Die Nieren zeigten parenchymatöse Veränderungen.

Die Lymphdrüsen konnten nicht in allen Fällen ausführlich untersucht werden.

In den relativ selten vorkommenden, ausgesprochen primären Bubonen erwiesen sich die Drüsen stark vergrößert, mit Hämorrhagieen und nekrotischen Herden besät, das umgebende Gewebe hämorrhagisch infiltriert.

Wenn wir aus dem Sitze der primären Bubonen einen Schluß auf die Eintrittspforte der Infektion ziehen, so nimmt es wunder, daß verhältnismäßig selten eine Infektion per os vorkommt; das Vorhandensein der peripheren (axillaren und inguinalen) Bubonen weist auf eine kutane Infektion hin. In vielen Fällen blieb die Invasionspforte unaufgeklärt.

Wie aus diesem kurzen Ueberblick des pathologisch-anatomischen Befundes ersichtlich ist, sind für die Rattenpestdiagnose wichtig: Gesamtes Bild akuter Sepsis, primäre Bubonen und nekrotische Knötchen in Leber und Milz.

Bei der histologischen Untersuchung (die Organe wurden teils in Spiritus, meistenteils aber in Formalin fixiert) zeigte die Lunge meist mehr oder weniger stark ausgesprochene hyperämische Erscheinungen mit Füllung der Alveolen durch rote Blutkörperchen; solche Hämorrhagieen waren manchmal stärker ausgesprochen, indem sie z. B. in einem Falle die ganze Hälfte des Lungenlappens einnahmen; in demselben Falle sind ferner pneumonische Herde von geringer Ausdehnung, im anderen Lappen verzeichnet.

Eine beständige Erscheinung bei der histologischen Untersuchung der Leber waren nekrotische Knötchen; sie stellen sich als unregelmäßig zerworfene Herde der Koagulationsnekrose der Leberzellen dar; die Herde sind manchmal von Leukocyten infiltriert. In einigen Herden findet man keine Bacillen, in anderen findet man eine Unmenge davon; sie liegen meist in den Endothelzellen; durch das rapide Wachstum der Bakterien nach Zugrundegehen der Zellen, in denen sie wucherten, bilden sich große freiliegende Bakterienhaufen. Parallel mit dem Vorhandensein der Bakterien in den Knötchen geht ihr Befund in den Kapillaren: Hier erscheinen die Bakterien gleichfalls entweder eingeschlossen in den Endothelzellen oder frei und bilden nicht selten große Anhäufungen.

Die Milz stellt auf den Schnitten die Erscheinungen akuter Schwellung dar; die pathologischen Erscheinungen betreffen hauptsächlich die Pulpa. Hier finden wir Hyperämie, Extravasate, häufig nekrotische Inseln, allerdings nicht so leicht bemerkbar wie in der Leber. In der Pulpa konzentrieren sich gleichfalls größere oder kleinere Anhäufungen von Bakterien, welche nur selten auch die Follikelränder einnehmen. Manchmal sind die nekrotischen Inseln von Leukocyten infiltriert, selten noch von einer schmalen Zone junger Bindegewebszellen umgeben.

Die Nierenschnitte zeigen das Bild einer toxischen Nephritis;

die Zahl der vorhandenen Bakterien entspricht dem Befunde in anderen Organen. Wenn die Bakterien in großer Zahl vorhanden sind, so findet man sie nicht allein in den Gefäßen, sondern auch in den Kanälchen und in den Lymphspalten.

Die Lymphdrüsen zeigen das Bild der Hyperämie und Hyperplasie; in den Gefäßen finden sich mehr oder weniger große Mengen von Bakterien. Die primären Bubonen geben das gewöhnliche Bild: Hämorrhagieen in dem Drüsengewebe, ausgedehnte Nekrosen auch in den Follikeln, starke Wucherung von Bakterienmassen in den Sinus und Follikeln, starke Wucherung von Bakterien in der Kapsel und im periglandulären Gewebe.

## VI. Bakteriologische Diagnose.

Bei der Sektion wurden Strichpräparate aus allen Organen angefertigt; die Fixierung wurde nach der bekannten Methode durch Verbrennung einer auf das Präparat aufgegossenen Mischung von Alkohol und Aether ausgeführt; die Präparate wurden mit Methylenblau und nach Gram gefärbt. Die in den Präparaten aufgefundenen Bakterien, nach Gram unfärbbar, mit schöner bipolarer Färbung, typischer Anordnung und Aussehen in den primären Bubonen, entsprachen vollkommen den Pestbakterien.

Hier wurden gleich bei der Sektion mit den üblichen Kautelen Aussaaten auf Agaragar aus den Organen und aus dem Herzen gemacht; die Kulturen wurden in den Thermostaten bei 28° C gestellt. Wie darauf schon hingewiesen wurde und wie wir uns selbst überzeugten, ist eine solche niedrige Temperatur für das Wachstum des Pestbakteriums günstiger als die gewöhnliche Brüttemperatur von 35—37°.

Gleichzeitig mit der Aussaat diente eine Emulsion aus dem Organe (Milz, Leber) zur Infizierung der Meerschweinchen. Die Impfung geschah meistens durch Einreibung der Emulsion resp. der Kultur in die rasierte Bauchhaut des Meerschweinchens, seltener durch Injektion unter die Haut. Wie aus der Tabelle ersichtlich, wurden Meerschweinchenimpfungen fast in allen Fällen ausgeführt und bei denselben wurden die charakteristischen Veränderungen gefunden: Hämorrhagische Septikämie mit Bubonenbildung, nekrotische Herde in der Milz, seltener in der Leber.

Bezüglich der verschiedenen Impfmethoden will ich vor allem die Albrecht und Ghonsche Methode — Einreibung in die rasierte Haut — erwähnen. Bei meinen früheren Arbeiten mit Pest konnte ich mich überzeugen, daß auch bei dieser Impfmethode die Virulenz der Mikroben eine große Rolle spielt: In meinen Händen war eine alte Kultur, die soweit ihre Virulenz verloren hatte, daß bei der Injektion in die Bauchhöhle des Meerschweinchens in einer Menge von 1—2 Agarkulturen bloß eine chronische Pestform mit einer starken Schrumpfung und Verdickung des großen Netzes, Umwandlung desselben in eine große Geschwulst, die die ganze Bauchhöhle ausfüllte, hervorgerufen wurde (ich will nicht länger dabei verweilen, weil analoge Beobachtungen von Albrecht und Ghon beschrieben sind). Der Versuch, mit dieser Kultur durch Einreibung derselben in die rasierte Bauchhaut Meerschweinchen zu infizieren, blieb erfolglos.

Denselben Versuch mit dieser Kultur wiederholte ich an einem von mir aus der Mongolei mitgebrachten Tarabagan (Arctomys bobac);

hier verursachte die Einreibung in die Haut ebensowenig eine Infektion, wogegen die nachfolgende subkutane Impfung eine allgemeine Septikämie und hämorrhagische Pestpneumonie ohne örtliche Reaktion und ohne Bubonenbildung erzeugte.

Mich jedoch vollends auf die Richtigkeit der Beobachtungen Albrechts und Ghons stützend, welche auch von den Berliner Forschern bestätigt wurden, wandte ich diese Methode bei der Untersuchung der Kultur aus dem ersten Odessaer Pestfalle an und erhielt den Tod des Meerschweinchens unter typischen Erscheinungen am 7. Tage. In Bezug auf Pestratten waren die Ergebnisse weniger erfolgreich: Von 13 Meerschweinchen, welche mittels dieser Methode infiziert wurden, starben an Pest 7, die 5—10 Tage krank waren; 1 wurde in krankem Zustande am 4. Tage getötet, die Kulturen sind positiv ausgefallen; 3 sind gesund geblieben, 1 war krank, erholte sich, wurde am 15. Tage getötet und zeigte Pestbakterien nur in einem Milzknoten; das letzte erkrankte, erholte sich, die Sektion am 21. Tage ergab ein negatives Resultat.

Da in 3 Fällen, wo die Meerschweinchen gesund geblieben sind, die Ausstrichpräparate aus den Rattenorganen nur spärliche Stäbchen aufwiesen und in dem Falle, wo das Meerschweinchen sich ganz erholte, die Peststäbchen nur in einem Milzknoten vorhanden waren, so liegt die Vermutung nahe, daß die Quantität (oder Virulenz) der auf die Haut gebrachten Mikroben auch bei dieser Methode von großer Bedeutung ist.

Bei der subkutanen Impfung starben die Meerschweinchen ausnahmslos am 3—6. Tage. Wenn somit die subkutane Impfung mit Reinkulturen rapidere Resultate ergiebt, so ist die kutane Impfung unentbehrlich in den Fällen, wo man mit virulentem aber verunreinigtem Materiale zu thun hat.

Die Infektion durch Einreibung in die Nasenöffnung nach Batzaroff ist an 2 Meerschweinchen geprüft, 1 ist gesund geblieben (No. 67), das andere (No. 43) ist nach 5 Tagen gestorben, wobei die Sektion nicht das Bild der Inhalations-, sondern das der Fütterungspest ergab.

Die Kulturen aus den Organen wuchsen im Thermostaten meistenteils innerhalb 24 Stunden, selten bei geringer Bakterienzahl an 2 Tagen. Nur einmal wurde die Kultur (bei 35°) erst am 3. Tage erhalten. Die Kulturen wurden meistenteils schon gleich aus dem Rattenkörper rein erhalten: im Falle einer Verunreinigung wurden sie durch Tierpassage rein gezüchtet. Im ganzen sind 14 Kulturen isoliert worden.

Sämtliche Kulturen sind darauf einer systematischen Prüfung unterzogen worden; es wurde bestimmt: die Unbeweglichkeit der Bakterien, ihre morphologischen Eigentümlichkeiten beim Wachstum auf Agaragar und Bouillon; ihr Verhalten zu den Farbstoffen (Entfärbung nach Gram); es wurden Ueberimpfungen auf Gelatine gemacht, um das Aussehen der Kolonieen zu studieren, Stichkulturen in Gelatine, ferner die Gärungsprobe in zuckerhaltiger Bouillon (negativ). Von allen Kulturen wurden auch die für Pest charakteristischen Involutionsformen auf ClNa-Agar nach Hankin erhalten. An vielen Präparaten sind auch verzweigte Formen konstatiert.

Ich will den Leser nicht mit der Beschreibung der Kulturen und der mikroskopischen Präparate ermüden, welche den in der Litteratur

vorhandenen Angaben vollständig entsprach und allen Bakteriologen genügend bekannt ist.

Was die Virulenz der Rattenkulturen betrifft, so kann man nach den Ergebnissen der kutanen Meerschweinchenimpfung vermuten, daß vielleicht einige von den Novemberratten ein abgeschwächtes Kontagium enthielten. Von den übrigen Ratten ist dasselbe nicht zu behaupten, die Kultur XIV (von der letzten Ratte) erzeugte bei Impfung mit $^{1}/_{100}$ Oese den Tod des Meerschweinchens nach 4 Tagen. Das Pestkontagium ist also durch successive Passage von Ratte zu Ratte unter natürlichen Umständen während dieser Periode nicht abgeschwächt worden.

Die allerwichtigste Bedeutung für die Diagnostik hat die biologische Reaktion, die Wirkung des spezifischen Serums auf die Kultur.

Immunisiert das Pestserum Meerschweinchen gegen die Infektion mit den Rattenkulturen? Zur Lösung dieser Frage spritzte ich Meerschweinchen aus der Kultur VI Dosen ein, die die tödliche Dosis um ein Multiplum übertrafen. 4 Kontrolltiere starben nach 3—5 Tagen unter typischen Erscheinungen mit starker Milzschwellung und vielen nekrotischen Knötchen in derselben. 3 Versuchstiere, die gleichzeitig mit der Kultur eine subkutane Injektion von 2, 5 und 10 ccm Pariser Pestserums erhielten, starben nach 8, 9 und 10 Tagen, also viel später als die Kontrolltiere, und erkrankten gleichfalls später; bei der Sektion trat eine herdförmige, sowie diffuse pneumonische Erkrankung der Lungen in den Vordergrund; die Milz war wenig vergrößert, ohne Knötchenbildung. Bekanntlich ist von Batzaroff (5) das Auftreten von „verspäteten“ Pneumonieen konstatiert worden, namentlich bei immunisierten Tieren, so daß man auf Grund dieses Versuches wohl sagen kann, daß das Serum, indem es das Leben der Tiere verlängerte und das Sektionsbild modifizierte, eine Schutzwirkung ausübte.

Agglutinationsversuche, mit flüssigem Pariser Serum ausgeführt, blieben erfolglos; auch Menschenpeststämme wurden nicht durch dieses Serum agglutiniert. Erst nachdem ich trockenes Serum vom Institute Pasteur erhielt, fielen die Experimente positiv aus: Alle Kulturen wurden durch dieses Serum agglutiniert, manche von ihnen sogar höher als Menschenpeststämme. Hohe Agglutinationswerte (bis 140) zeigte mir auch das Tavelsche Serum.

Entscheidend für die Diagnose zeigte sich auch das Pfeiffersche Phänomen.

Ich studierte dasselbe in der Weise, daß Meerschweinchen subkutan oder intraperitoneal 4 ccm Pariser Serum erhielten und 16—20 Stunden darauf große Dosen (von 2 Oesen bis zu einer ganzen Agarkultur) der zu prüfenden Kultur. Erprobt sind Kulturen I, V, XIV und ein Menschenpeststamm.

Das Exsudat wurde mittels Kapillarpipetten aus der Bauchhöhle entnommen, auf dem Objektglase fixiert und mit Methylenblau gefärbt.

Die Reaktion fällt sehr prägnant aus: Wie für den Menschenpeststamm, so gleichsam für die Rattenkulturen bestand sie darin, daß die eingespritzten Bakterien eine kugelige Form annahmen, aufquollen, in Form von Haufen miteinander verklebten und mit Methylenblau sich sehr schwach färbten; dieselben nahmen einen violetten Farbenton an, der alle diese veränderten Formen distinkt von normalen Bakterien unterschied.

Bezüglich des zeitlichen Eintrittes der Reaktion ist wichtig, zu bemerken, daß bei Injektion des Serums in die Bauchhöhle das Phänomen sehr bald eintritt, innerhalb $^1/_2$ Stunde; bei subkutaner Seruminjektion ist die beste Beobachtungszeit $2^1/_2$, 3 Stunden nach erfolgter Bakterienimpfung (wie es auch von Kolle und Martini [6] beschrieben wurde).

Die Kontrolltiere (ohne Serum) starben nach 1—2 Tagen; die mit Serum behandelten lebten länger, einige starben erst am 5. oder 7. Tage. Das Sektionsbild bei solchen Tieren unterschied sich von dem der Kontrollmeerschweinchen: In 3 Fällen wurde eine Periorchitis gefunden und geschrumpftes hartes Netz bei wenig oder gar nicht vergrößerter Milz. Diese Veränderungen wie der protrahierte Krankheitsverlauf erklären sich gleichfalls durch die schützende Wirkung des Serums.

Wenn man die ausführlichen Kontrolluntersuchungen mittels der Agglutination und des Pfeifferschen Phänomens in Betracht zieht, welche bezüglich der Pest von Kolle und Martini (6) ausgeführt sind, so muß man unsere Kulturen unzweifelhaft als Pest ansehen, und also auch als feststehend die Tatsache des halbjährigen Herrschens einer Pestepizootie unter den Ratten in einem Orte, wo während dieser Zeit keine Pesterkrankungen unter der Bevölkerung konstatiert wurden.

Diese Beobachtungen können allenfalls das wiederholte Auftauchen einer Epidemie in Orten erklären, wo Menschenpest einmal aufgetreten und wieder verschwunden ist.

Wie bereits bemerkt wurde, sind die Rattenuntersuchungen erst nach dem Auftreten des zweiten Pestfalles angestellt worden; leider sind sie auch zu früh unterbrochen worden. Wir können deshalb nicht wissen, ob die zuletzt gefundene Pestratte vom 31. März das Ende der Epizootie bedeutet oder ob dieselbe vielleicht in andere Stadtteile übergesiedelt ist? Welchen Verlauf in diesem Falle die Epizootie annehmen und ob sie eventuell auf den Menschen übergehen wird, dies sind Fragen, auf welche erst die Zukunft eine Antwort geben kann.

Odessa, im Mai 1902.

---

Nachdem diese Arbeit beendigt war, ist in Odessa Ende Mai eine Pestepidemie ausgebrochen; bis jetzt (1. November) sind 50 Fälle konstatiert worden, von denen 18 tödlich endeten.

Pestratten sind nach langem Suchen auch jetzt, aber erst Mitte August, entdeckt, und zwar an 2 Orten (Märkten), die vermutlich als Pestquellen anzusehen sind, da fast alle Fälle sich in ihrer nächsten Umgebung gruppierten; beide Märkte sind ziemlich weit vom Hafen entfernt, ihre Umgebung ist von einer dichten, ärmeren Bevölkerung bewohnt. Es besteht kein Zweifel, daß die 2 Pestfälle vom vorigen Jahre, denen die Rattenepizootie folgte, in ätiologischen Zusammenhang mit der jetzt ausgebrochenen Epidemie zu bringen sind.

Der Anstoß für das erneute Auftreten der Pest ist wahrscheinlich durch die Ueberwanderung der Pestratten in die dicht bewohnten Stadtteile gegeben worden.

---

**Litteratur.**

1) Ueber die Beulenpest in Bombay im Jahre 1897. Teil IIc. p. 642 (Litteraturangaben) u. 693—697 (eigene Beobachtungen).
2) Stefansky, Centralbl. f. Bakt. etc. (im Druck).
3) Olschanetzky, Ueber ein neues alkohol- und säurefestes Stäbchen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXII. Orig. p. 16.)
4) Abel, R., Was wußten unsere Vorfahren von der Empfänglichkeit der Ratten und Mäuse für die Beulenpest des Menschen? (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. p. 118.)
5) Batzaroff, La pneumonie pesteuse expérimentale. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 386.)
6) Kolle und Martini, Ueber Pest. (Dtsch. med. Wochenschr. 1902. No. 1—4.)

*Nachdruck verboten.*

# Ueber ein für Hausratten pathogenes Bakterium.

[Aus dem Institute für Bakteriologie und Mikroskopie zu Tokyo.]

Von Dr. **C. Toyama**, Direktor im Institute.

Die Hausratte pflegt überall in der Umgebung des Menschen sich aufzuhalten. Die Erforschung ihrer Charaktereigentümlichkeiten und ihrer Erkrankungen ist naturgemäß von großer Wichtigkeit, und zwar 1) bezüglich des Verhältnisses zu den menschlichen Krankheitserregern; 2) der Differenzierung zwischen dem menschlichen und dem tierischen Krankheitserreger; 3) der Anwendung des Krankheitserregers zur Vertilgung der Ratten u. s. w.

Leider ist die Aetiologie der Rattenkrankheiten noch wenig bekannt, desgleichen wie sich diese Krankheiten den Menschen gegenüber verhalten.

Bei der großen Rolle, welche die Ratten bei der Verbreitung der Pest spielen, dürfte jeder Beitrag, welcher unsere Kenntnisse von den Rattenkrankheiten erweitert, von Interesse sein.

Ich will hier über eine Art von pathogenen Bakterien in der Hausratte berichten.

Am 14. Januar 1890 brachte mir mein Freund, Herr Dr. B. Tanaka, eine Rattenleiche und teilte mir dabei folgendes mit: „Am 10. dieses Monats wurde eine Rattenleiche in der Küche meines Hauses gefunden, 2 Tage später, am 13., wurde noch eine solche entdeckt zwischen zwei Matratzen, die täglich gebraucht wurden. Wahrscheinlich ist die Ursache des Todes bei beiden Rattenleichen die gleiche. Die letztere Rattenleiche bringe ich Ihnen zur Untersuchung."

Der Sektionsbefund dieser Ratte ergab:

Am 15. Januar (etwa 30 Stunden nach dem Tode) mittelmäßig große Hausratte, Farbe bräunlich-schwarz, Unterhautflüssigkeit normal, linke Schenkeldrüsen angeschwollen, Milz sehr vergrößert, übrige Körperteile keine Veränderung. Fäulniserscheinung noch in keinem inneren Organ vorhanden.

Mikroskopische Befunde:

In dem Trockenpräparate der Milz sah ich eine Bakterienart, mit keiner anderen Art gemischt und in sehr großer Zahl. Sie ist fast kugelig oder kurz elliptisch und größer als gewöhnliche Mikrokokken, doch ist ihre Größe ziemlich variabel, und die Bakterien standen isoliert oder nebeneinander.

In dem Präparate der Schenkeldrüsen waren gleichartige Bakterien vorhanden, aber in geringerer Zahl.

Blut (Herz) und andere Organe enthielten sehr wenige gleichartige Bakterien.

Kultur: Stichpräparate mit Platindraht aus Milz und Schenkeldrüsen wurden auf Agarplatten, schrägen Agar und in Bouillon geimpft. Während 24 Stunden ließ

ich die Kulturen im Brutofen, dann sah ich in mehreren Kulturen die Bakterien sich vermehren. (Aus diesen Reinkulturen machte ich dann noch viele andere Kulturen.)

Seit November 1899 (der Zeit der Pestepidemie in Kōbe und Osaka) bis Mitte Februar 1900 wurden etwa 30 Hausratten in meinem Hause gefangen, und zwar darunter vom 18. auf den 19. dieses Monates 5. Davon sah die eine, die am 18. um 11 Uhr vormittags gefangen wurde, etwas anders aus, als die normalen. Sie war kraftlos und ihre Bewegungen taumelnd. Doch achtete ich nicht weiter auf diese Befunde. Im der Nacht des 18. starb das Tier. Am nächsten Morgen, dem 19., wurde eine andere Hausratte gefangen, deren Aussehen der am vorigen Tage gestorbenen ganz ähnlich war und die um 1 Uhr nachmittags auch zu Grunde ging. Die letztere (am 19.) gestorbene Hausratte benutzte ich als Versuchsmaterial.

Als Fangwerkzeug in meinem Hause diente der in Tokyo sehr weit verbreitete hekaedrische, aus Eisendraht geflochtene Korb. Tritt eine Hausratte von der Seite der Oeffnung ein und packt nach dem in der Mitte angehakten Speisestück, so schließt sich die Oeffnung von selbst. Bei diesem Fange ist demnach eine Verletzung des Rattenkörpers ausgeschlossen.

Sektionsbefund am 19. Februar (1 Stunde nach dem Tode): Körper der Ratte etwas klein, Hauthaare braun, subkutane Flüssigkeit normal, beide Schenkeldrüsen wenig angeschwollen.

Es wurden Trockenpräparate aus verschiedenen Organen angelegt und in den Schenkeldrüsen viele Bakterien gefunden, die den in der 1. erkrankten Hausratte gesehenen glichen. In anderen Organen war ihre Zahl gering. Da die Kulturen fast gleichen Erfolg hatten, wie im 1. Fall, will ich diese mit Stillschweigen übergehen.

Am 26. April wurde wieder eine kleine Hausratte in meinem Hause gefangen, die keine krankhafte Erscheinung erkennen ließ, und der ich Futter gab, um ihren Gesundheitszustand zu beobachten, doch ging sie plötzlich in der Nacht zu Grunde.

Sektionsbefund: In der 10. Stunde nach dem Tode. Körpergewicht 60 g, Inguinaldrüsen normal, aber mit reichlicher Vaskularisation, Brusthöhle allgemein blutreich. Andere Veränderungen nicht erkennbar.

Mikroskopischer Befund: Die Inguinaldrüsen zeigten reichlichst Bakterien, die mit den oben beschriebenen übereinstimmten; sie waren isoliert und bildeten keine Haufen. In der Leber wurden die gleichen Bakterien, aber hier und da mit Haufenbildungen, beobachtet. In Milz und Nieren fanden sich nur wenige Bakterien, noch weniger im Blute, immer aber waren sie ganz rein und nicht mit anderen Bakterien vermischt. Die Bakterien entfärbten sich in allen Präparaten nach Grams Methode.

Kulturen wurden aus Leber und Inguinaldrüsen in Agar und Bouillon angelegt. Nach 24 Stunden waren die Kulturen aus der Leber ganz rein, wogegen in den aus den Inguinaldrüsen angelegten die Bakterien mit Hefen und Heubacillen vermischt waren.

In der Nacht am 27. April wurde abermals eine Hausratte in meinem Hause gefangen. Am nächsten Morgen (28.) beobachtete ich, daß sie sichtlich kraftlos war und in einer Ecke der Falle buckelig dasaß. Sie lief nicht herum, obgleich man sie wegjagte, sondern atmete schwer und starb nach kurzer Zeit (vormittags um 9 Uhr).

Sektionsbefund: Körpergewicht und Aussehen sind größtenteils dem der 3. Hausratte gleich.

Mikroskopischer Befund: In Leber und Schenkeldrüsen fanden sich die gleichen Bakterien und zwar besonders zahlreich in der Leber; sie bildeten hier und da Haufen. In der Milz und im Herzblut fanden sie sich selten. Doch wurde noch in der Leber eine andere, ziemlich große Bacillenart vorgefunden.

In Kulturen aus Leber wuchsen neben den eigenartigen Bakterien noch eine Menge von Bacillen. Die Kultur aus Herzblut war fast rein, dagegen zeigten die aus Drüsen keine Entwickelung, die aus der Mundflüssigkeit gemachte Kultur entwickelte sich mit einem Gemenge von seltener Hefe. Das Präparat, das von jeder Kultur gemacht wurde, wurde durch die Gramsche Methode ganz entfärbt und seine Formen waren ganz übereinstimmend.

In der Nacht am 29. April wurde wieder eine alte Hausratte in meinem Hause gefangen, die am nächsten Morgen (um 10 Uhr vormittags) zu Grunde ging.

Sektionsbefund: Sehr große Rattenleiche, beide Hoden angeschwollen, walnußgroß, linke Inguinaldrüse ziemlich vergrößert und blutreich, rechte normal. Milz etwas vergrößert. Hodensubstanz ganz normal und ohne Oedem und Eiterung. Die anderen Körperteile normal.

Mikroskopische Befunde: Alle Organe hatten eigentümliche Bakterien, und zwar waren sie in den Inguinaldrüsen in mittelmäßiger Zahl, in Milz und Leber in sehr geringer, im Herzblute aber in sehr reicher Anzahl.

Kultur: Die charakteristischen Bakterien entwickelten sich schön in einer Kultur, die aus Herzblut angelegt worden war.

Am 24. Mai wurde mir eine Ratte, die im Hause meines Freundes, des Herrn Dr. R. Shindo, gefangen worden war, zugeschickt. Sie schien normal zu sein, aber schon am nächsten Tage wurde sie kraftlos und starb in der Nacht.

Sektionsbefund: Etwa 40 Stunden nach dem Tode war die Brusthöhle allgemein blutreich, sonst keine andere Veränderung sichtbar.

Mikroskopischer Befund: In der Milz fanden sich die charakteristischen Bakterien zahlreich, in der Leber in mittelmäßiger Zahl, zahlreich dagegen in der Niere und hier und da gehäuft, auch in der Lunge waren sie reichlich, im Herzblute spärlich, in den Hoden und Lymphdrüsen gar nicht vorhanden. In der Harnblase fanden sich zahlreiche andere große Bacillen (wahrscheinlich Heubacillen).

In Bouillonkultur aus der Lunge und Milz entwickelten sich die Bakterien nach 24 Stunden deutlich.

Am 25. Mai wurde wieder eine Hausratte in meinem Laboratorium gefangen, die sehr kraftlos und ohne Appetit war. Am 2. Juni wurde sie immer schwächer, blieb, obgleich man sie stieß, bewegungslos und bucklig in einer Ecke der Falle sitzen, wo sie starb.

Sektionsbefund: Etwa 14—15 Stunden nach dem Tode war noch kein Zeichen der Fäulnis aufgetreten und das Aussehen zeigte keine bedeutende Veränderung.

Mikroskopischer Befund: In den Schenkeldrüsen und der Leber wurden zahlreiche der obengenannten Bakterien, in der Milz wenige, im Herzblute äußerst selten solche gefunden.

Die Kultur war den vorigen Fällen ganz gleich.

Am 29. Mai fing ich 3 junge Ratten zu gleicher Zeit in meinem Laboratorium und hielt dieselben in einem Kasten. Am 4. Juni starb die eine, die anderen fraßen ihre Leiche bis auf die untere Hälfte des Körpers auf.

Mikroskopischer Befund: In den Schenkeldrüsen fanden sich die Bakterien massenhaft; andere Organe wurden nicht darauf hin untersucht.

Die Kultur war den vorigen gleich.

Am 23. Juni wurde die alte Ratte, die während etwa 2 Monaten in meinem Laboratorium gehalten worden war, schlaffer, und starb an diesem Tage endlich.

Sektionsbefund: Etwa 6 Stunden nach dem Tode waren in den verschiedenen Organen keine deutlichen Veränderungen sichtbar, nur waren die Muskeln des ganzen Körpers abgemagert und das Blut vermindert.

Mikroskopischer Befund: In den Schenkeldrüsen ziemlich reichliche Bakterien, die in den anderen Organen nicht erkennbar waren.

Kultur aus den Schenkeldrüsen entwickelte die Bakterien in Reinkultur.

Ich habe schon oben erwähnt, daß die Ratten nicht infolge der ihnen bei dem Fangen beigebrachten mechanischen Verletzungen eingingen.

Um nun auch noch den Zweifel zu zerstreuen, daß sie nach dem Fangen durch mangelhafte Fütterung gestorben seien, fütterte ich einige, die als die gesundesten unter den gefangenen angesehen wurden, unter den gleichen Verhältnissen zur Kontrolle.

Viele von diesen lebten gesund mehrere Wochen oder Monate lang fort, woraus ich schließe, daß eine Bakterienart, die sich im Rattenkörper befand, die Todesursache war. Um den Beweis für meine Annahme zu erbringen, entschloß ich mich, folgende Tierversuche zu machen:

I. 1. Maus. Am 15. Januar impfte ich einer mittelgroßen Maus subkutan ein kleines Stückchen Leber der 1. erkrankten Hausratte. Das Tier ging am 26. (am 10. Tage nach der Impfung) ein.

Bei der mikroskopischen Untersuchung sah ich in der Leber eine große Zahl der oben beschriebenen Mikroorganismen, eine kleine Zahl in Milz und Schenkeldrüsen.

II. 2. Maus. Am 24. Januar impfte ich der Maus subkutan die zerquetschten Schenkeldrüsen von der 2. erkrankten Hausratte ein; sie starb am 29. (am 5. Tage nach der Impfung). Die mikroskopische Untersuchung ergab eine geringe Zahl der betr. Bakterien in Milz und Schenkeldrüsen.

III. 3. Maus. Am 10. Februar impfte ich subkutan 2 Mäusen 2 Platinösen Agarkultur ein, doch blieben sie lange Zeit darauf wohl.

IV. 4. Maus. Am 15. Februar spritzte ich 0,15 ccm einer Bouillonkultur in die Bauchhöhle von 2 mittelgroßen Mäusen ein; eine von diesen starb am 7. Tage nach der Impfung.

Bei der mikroskopischen Untersuchung fand sich in allen Organen eine kleine Zahl der obigen Bakterien. Die andere Maus, die mit ihr zusammen war, fraß den Kopf und Halsteil der gestorbenen auf, blieb aber lange Zeit gesund.

V. 5. Maus. Am 14. Mai zerquetschte ich ein zahlreiche Bakterien enthaltendes Stückchen Milz der Hausratte, die durch die Impfung der obigen Kultur gestorben war und impfte damit subkutan 2 junge Mäuse (Körpergewicht 8 g), die aber lange gesund blieben.

VI. 6. Maus. Am 23. Mai spritzte ich in die Bauchhöhle von zwei 12 g schweren Mäusen 0,3 ccm Bouillonkultur (einige Tropfen flossen zurück), die 4 Tage im Brutofen war, ein. Die eine davon starb in der Nacht des folgenden Tages (innerhalb 36 Stunden nach der Impfung).

Die Sektion ergab Hyperämie und Anschwellung der beiden Inguinaldrüsen, geringe Vergrößerung der Milz und diffuse Hyperämie der Brusthöhle.

Bei der mikroskopischen Untersuchung fand ich mittelgroße Mengen derselben Bakterien in den linken Inguinaldrüsen und der Milz, eine geringe Menge in den rechten Inguinaldrüsen und in dem Herzblute. In der Leber und Milz fand ich außer denselben Bakterien noch viele andere Bacillen. Unter diesen waren viele, welche an beiden Enden tief gefärbt und größer als Pestbakterien waren; sie waren wahrscheinlich nach dem Tode aus dem Darmtraktus eingedrungen.

VII. 7. Maus. Am 2. Juni spritzte ich 0,3 ccm Herzblut der 5. erkrankten Hausratte in die Bauchhöhle von 2 mittelgroßen Mäusen ein; beide starben am 13. Tage nach der Impfung. Bei der mikroskopischen Untersuchung sah ich dieselben Bakterien in allen Organen.

VIII. 8. Maus. Am 3. September spritzte ich in die Bauchhöhle von 3 Mäusen 0,5 ccm Bouillonkultur ein. Zwei der Tiere starben nach 24 Stunden und die mikroskopische Untersuchung ergab viele charakteristische Bakterien im Herzblut und der Leber, weniger zahlreiche in der Milz, aber nie in den Schenkeldrüsen.

IX. Meerschweinchen. Am 18. August spritzte ich 0,5 ccm Bouillonkultur, die 2 Tage lang im Brutofen gestanden hatte, in die Bauchhöhle eines 200 g schweren Meerschweinchens, ohne aber eine Veränderung zu sehen.

X. 1. Ratte. Am 20. März spritzte ich 0,3 ccm einer 3 Tage alten Bouillonkultur in die Bauchhöhle einer Ratte ein und fand keine Veränderung.

XI. 2. Ratte. An demselben Tage impfte ich subkutan einer Ratte 3 Platinösen von 3 Tage alter Agarkultur ein, fand aber auch keine Veränderung.

XII. 3. Ratte. Am 24. Mai spritzte ich 1 ccm einer 2 Tage alten Bouillonkultur in die Bauchhhöhle einer großen Ratte ein; sie starb am 40. Tage nach der Impfung. Da aber ein Fehler bei der Fütterung vorgekommen war, war es zweifelhaft, ob sie durch die Impfung gestorben war oder nicht.

XIII. 1. Hausratte. Am 24. Januar spritzte ich 0,5 ccm Bouillonkultur, die 2 Tage lang stehen blieb, subkutan in die Lendengegend einer mittelgroßen Hausratte; sie starb am 2. Tage nach der Impfung (am 26).

Bei der makroskopischen Untersuchung sah ich bedeutende Blutung der Brust, besonders in der linken Seite, Anschwellung der beiden Schenkeldrüsen, sonst aber keine Veränderung.

Ein Trockenpräparat aus den Schenkeldrüsen ergab viele Bakterien, während in Leber und Milz und in anderen Organen ihre Zahl sehr gering war.

XIV. 2. Hausratte. Am 31. Januar spritzte ich in die Bauchhöhle einer Hausratte (mit einem Körpergewicht von 26 g) ungefähr 0,2 ccm einer Bouillonkultur ein; sie starb in der Nacht am 1. Februar (innerhalb 30 Stunden nach der Impfung).

Bei der Sektion fand ich das subkutane Gewebe normal und mehr oder weniger Blutung und Anschwellung der Schenkeldrüsen, Inguinaldrüsen, Mesenterialdrüsen und der Milz. Die mikroskopische Untersuchung ergab in den Schenkeldrüsen und der Milz viele der oben beschriebenen Bakterien, in geringer Zahl auch in den Lungen, den Mesenterialdrüsen, selten in den Nieren, dem Herzblut und der Leber.

XV. 3. Hausratte. Am 23. Februar mittags fing ich gleichfalls und an der gleichen Stelle 2 fast gleichgroße Hausratten. Beide waren gesund und lebhaft. In die Bauchhöhle der einen spritzte ich 0,2 ccm einer 20 Tage alten Bouillonkultur ein, während ich die andere zur Kontrolle mit ihr zusammen fütterte. Die erste Ratte wurde am Nachmittag schlaffer und starb noch in derselben Nacht (14 Stunden nach der Impfung), wogegen die letztere gesund blieb.

Die Sektion ergab Hyperämie des ganzen subkutanen Gewebes, Blutung in der Bauchhöhle, Hyperämie der Brusthöhle und bedeutende Anschwellung der Milz.

Bei der mikroskopischen Untersuchung sah ich eine große Zahl der eigenartigen Bakterien in den Schenkeldrüsen und eine kleine Zahl derselben in der Milz, den Mesenterialdrüsen und dem Herzblut.

XVI. 4. Hausratte. Am 3. März war bei einer als Kontrolltier gehaltenen Hausratte noch keine Veränderung nachweisbar, obwohl sie nach dem Fangen 4 Tage lang beobachtet worden war. Dann fütterte ich sie von diesem Tage an mit einem Stück Brot, das in eine 23 Tage alte Bouillonkultur eingetaucht worden war. Die Hausratte fraß davon während 3 Tagen und starb am 10. Oktober (am 7. Tage nach dem Versuche).

Bei der mikroskopischen Untersuchung fand ich die charakteristischen Bakterien, am reichlichsten im Herzblut, demnächst in den Schenkeldrüsen, dann in der Leber und Milz, sonst aber in geringer Zahl.

Die nähere Untersuchung der verschiedenen Präparate ergab eine Uebereinstimmung mit denen der verstorbenen Originalratte, nur waren bezüglich der Morphologie die Bakterien mehr oder weniger verschieden, meistens waren sie aber rundlich oval und ließen auf Zugehörigkeit zu den Bacillen schließen. Besonders bemerkenswert war, daß sie im Blut meistens isoliert, oder manchmal in zweigliedrigen Reihen vorkommen, nur selten Gruppen bilden und daß einige Leukocyten in ihrem Protoplasma zahlreiche Bakterien enthalten; nur selten sah man die ganzen Leukocyten mit denselben Bakterien überfüllt. Auch sah man in der Milz außer den in der Größe ziemlich inkonstanten Bakterien solche, die 2, 3, selten 5 oder 6-gliedrige kurze Ketten bildeten.

XVII. 5. Hausratte. Am 25. März fütterte ich in gleicher Weise wie bei der vorigen Untersuchung eine alte, 95 g schwere Hausratte, die man für gesund halten mußte, obgleich sie von Anfang an nicht sehr lebhaft war.

Am 9. April machte ich in den hinteren Fuß einen Einstich, fand aber keine Bakterien bei der mikroskopischen Untersuchung im Blute. Als ich das Blut auf der schiefen Agarfläche ausstrich, wuchs eine reinweiße Kolonie, die aber aus Streptokokken bestand, während die eigenartigen Bakterien fehlten. Nachdem sich die Freßlust der Ratte vermindert hatte und sie schwächer geworden war, starb sie in der Nacht des 10. (am 16. Tage nach dem Versuch).

Bei der Sektion ergab sich im Unterhautzellgewebe und in der Brusthöhle Wassermangel, Blutung in den Baucheingeweiden, Anschwellung der Lymphdrüsen und Milz fehlte.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich mehrere der eigenartigen Bakterien in der Milz, in mittelgroßer Zahl in der Leber und in geringerer im Herzblut und den Schenkeldrüsen.

Als ich die Milz auf Agar und in Bouillon kultivierte, wuchs anfangs eine isolierte punktförmige Kolonie, die sich allmählich vergrößerte und endlich verschmolz. Bei dieser Kultur sah man weder in Agar noch in Glycerinagar eine differenzierte Entwickelung.

Die Bakterien waren denen der Originalratte gleich.

XVIII. 6. Hausratte. Am 12. April bekam ich eine alte Hausratte, der ich als Nahrung die zerquetschte Leber der obigen Hausratte gab, welche ich auf ein Stückchen Brot gestrichen hatte. In 3 Tagen verzehrte sie dies, wurde nach einer Woche schwächer, magerte ab, verlor ihre Freßlust und saß am Ende der 2. Woche buckelig und still in einer Ecke der Falle. Am 2. Mai ließ ich sie abermals die Leber der vorigen Hausratte (IV. und V. erkrankte) fressen. Sie verzehrte sie in einem Tage und im Juni wurde sie immer schwächer und magerer, so daß man ihre Knochen von außen sehen konnte, und starb endlich in der Nacht des 3. (am 53. Tage nach der Fütterung).

Bei der Sektion, die etwa in der 40. Stunde nach dem Tode vorgenommen wurde, fiel der Mangel an Wasser in dem ganzen Körper auf. Nach Abhebung der Bauchhaut sah ich auf der vorderen Fläche der linken Bauchwand und der linken Seite des Nabels einen etwa 1 cm großen Absceß mit gelbem, dickflüssigem Inhalt.

Mikroskopischer Befund: Der Eiter enthielt viele eigenartige Bakterien, wogegen in der Milz weniger, aber mit vielen Bacillen gemischt, und im Herzblut Diplobakterien zahlreich zu finden waren.

XIX. 7. Hausratte. Am 25. April spritzte ich in die Bauchhöhle einer mittelgroßen, sehr lebhaften Hausratte 0,5 ccm einer 6 Tage alten Bouillonkultur ein; sie starb am 30. April (am 5. Tage nach der Impfung).

Sektionsbefund: Weil ich wegen anderer Arbeiten nicht bald sezieren konnte, verstrich eine Woche. Daher fand sich bei der Leiche beginnende Fäulnis; die linken Schenkeldrüsen waren wenig angeschwollen und hyperämisch, und die Brusthöhle im allgemeinen blutreich.

Mikroskopischer Befund: Die betreffenden Bakterien fanden sich massenhaft in den linken Schenkeldrüsen mit sehr geringer Vermischung mit anderen Bakterien. In den rechten Schenkeldrüsen waren die Bakterien recht reichlich, ebenso im Subkutangewebe. In der Leber und Milz waren nur wenige spezifische Bakterien mit zahlreichen Saprophyten vermischt.

XX. 8. Hausratte: Am 12. Mai, nachdem ich einer mittelgroßen Hausratte einige Tage lang Futter gegeben und ihren Zustand beobachtet hatte, gab ich ihr eine kleine Menge zermahlenen Reis zur Nahrung, mit dem ich die 22 Tage alte Bouillonkultur vermischte; ca. 36 Stunden nach dem Anfang des Experiments (in der Nacht des 13.) starb die Ratte. Im ganzen verbrauchte ich $^1/_4$ Reagensglas der Bouillonkultur.

Sektionsbefund (ca. 30 Stunden nach dem Tode): Der Darmkanal mit Gas erfüllt, Bauchhöhle frei von Flüssigkeit, sonst keine Veränderung.

Mikroskopischer Befund: Die Leber enthielt mittelmäßig viele spezifische Bakterien, in anderen Organen Milz, Lymphdrüsen und Herzblut sind dieselben spärlich oder fehlen ganz.

Um die Hauptpunkte in der Beschreibung obiger erkrankten Mutterratten und Versuchstiere hervorzuheben, verweise ich auf die folgende Tabelle:

Verhalten der erkrankten Mutteratten.

| No. | Hauptsächliche pathologische Veränderungen | Die Bakterien finden sich am zahlreichsten in |
|---|---|---|
| 1 | Anschwellung der Schenkeldrüsen und Milz | Milz |
| 2 | Anschwellung der Schenkeldrüsen | Schenkeldrüsen |
| 3 | Kongestion in der Brusthöhle | Leber |
| 4 | Kongestion in der Brusthöhle | Leber |
| 5 | Anschwellung der Hoden | Herzblut |
| 6 | Kongestion in der Brusthöhle | Niere und Lunge |
| 7 | | Schenkeldrüsen und Leber |
| 8 | | Schenkeldrüsen |
| 9 | | Schenkeldrüsen |

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß die hauptsächlichsten pathologischen Veränderungen in Anschwellungen der Lymphdrüsen (Schenkeldrüsen) und der Milz und Hyperämie der Brusthöhle bestehen. Die Bakterien finden sich hauptsächlich erstens in Lymphdrüsen, zweitens in Leber und Milz, Lunge, Niere und Herzblut.

Beim Durchlesen der Tabelle auf p. 279 zählt man 27 Tiere von 4 Arten.

Von 15 Mäusen starben 8, d. h. 53 Proz.

Der Verlauf der Infektion bis zum Tode schwankte zwischen 24 Stunden bis zu 13 Tagen; respektive die 4 mit Organen oder Blut geimpften Mäuse waren 5—13 Tage und die mit Bouillonkultur (etwa 1,2—2,5 Proz. vom Körpergewicht) eingespritzten Mäuse 24 Stunden bis 7 Tage lang am Leben.

Ein Meerschweinchen wurde mit Bouillonkultur (etwa 0,3 Proz. vom Körpergewicht) geimpft und 3 Ratten subkutan resp. intraperitoneal.

Nur eine dieser Ratten (XII) starb; aber weil in diesem Falle die Todesursache zweifelhaft blieb, muß ich erklären, daß Meerschweinchen und Ratten den Impfungen gegenüber unempfänglich sind.

Alle 8 Hausratten starben. Diejenigen, welche Bouillonkulturen (etwa 0,5—0,6 Proz. vom Körpergewicht) eingespritzt erhielten, starben nach 14 Stunden bis 5 Tagen und diejenigen, welche mit Organen und Kulturen gefüttert wurden, nach 36 Stunden bis 53 Tagen.

Bei den Mäusen konnte ich keine veränderten Hautstellen wahrnehmen, aber bei den Hausratten bemerkte ich Anschwellung der Inguinaldrüsen und der Milz, des weiteren Blutungen des Subkutangewebes und der Bauchhöhle. Einmal sah ich Absceß der Bauchwand.

Am zahlreichsten fanden sich die spezifischen Bakterien bei den Mäusen und Hausratten in Inguinaldrüsen und Milz, demnächst in Leber und Herzblut.

Da, wie aus obigen Untersuchungen hervorgeht, die Ratten, das Meerschweinchen und die Mäuse schwache Disposition für die Bakterien haben, wollte ich hauptsächlich mit den Hausratten experimentieren, aber unglücklicherweise konnte ich nicht viele Experimente anstellen.

Kultur. Man kann die Bakterien aus Leber und Lymphdrüsen der Mutterratten ganz gut kultivieren, nicht nur auf der Agarplatte, sondern auch in Bouillon oder auf schrägem Agar.

Manchmal vermischt sich der Streptococcus, der sich nicht nach Gram entfärbt. Dieser Streptococcus hat keine Virulenz für die Tiere.

Resultat der Tierversuche.
(+ die gestorbenen — die überlebenden).

| Nummer des Experimentes | Arten der Tiere | Zahl | Infektionsweise | Tod und Leben | Zeitdauer bis zum Tod | Die Bakterien finden sich in größter Zahl in | Hauptsächliche pathologische Veränderungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Maus | 1 | Organimpfung | + | 10 Tage | Leber | |
| 2 | „ | 1 | „ | + | 5 Tage | Milz und Schenkeldrüsen | |
| 3 | „ | 2 | Agarkulturimpfung | +— | | | |
| 4 | „ | 2 | Bouilloneinspritzung | +— | 7 Tage | Allen Organen | |
| 5 | „ | 2 | Organimpfung | —— | | | |
| 6 | „ | 2 | Bouilloneinspritzung | +— | 36 Stunden | Lymphdrüsen und Milz | |
| 7 | „ | 2 | Bluteinspritzung | ++ | 13 Stunden | Allen Organen | |
| 8 | „ | 3 | Bouilloneinspritzung | ++— | 24 Stunden | Allen Organen | |
| 9 | Meerschweinchen | 1 | „ | — | | | |
| 10 | Ratte | 1 | „ | — | | | |
| 11 | „ | 1 | Agarkulturimpfung | — | | | |
| 12 | „ | 1 | Bouilloneinspritzung | (+) | 4 Tage | | Blutung in der Pleura costalis, Anschwellung der Schenkeldrüsen |
| 13 | Hausratte | 1 | „ | + | 2 Tage | Schenkeldrüsen | |
| 14 | „ | 1 | „ | + | 30 Stunden | Schenkeldrüsen und Milz | Blutung im Subkutangewebe der Bauchhöhle, Anschwellung der Milz |
| 15 | „ | 1 | „ | + | 14 Stunden | Schenkeldrüsen | |
| 16 | „ | 1 | Fütterung durch Kultur | + | 7 Tage | Herzblut | |
| 17 | „ | 1 | „ | + | 16 Tage | Milz | |
| 18 | „ | 1 | „ | + | 53 Tage | Absceß der Bauchwand | Absceß der Bauchwand |
| 19 | „ | 1 | Bouilloneinspritzung | + | 5 Tage | Schenkeldrüsen | |
| 20 | „ | 1 | „ | + | 36 Stunden | Leber | |

Seltener sind die Kulturen durch eine Bacillenart (IV. und VI.) verunreinigt.

Auf der Agarplatte im Brutofen entwickeln sich die Bakterien in einem Tage. Die Farbe der Kolonie ist grauweiß von saftreichem Aussehen. Die Oberfläche ist fast eben, die Peripherie ist glatt, unregelmäßig und scharf begrenzt. Wenn die Entwickelung auf der Agarfläche langsam war, erschienen die Kolonieen anfangs grauweiß und feinkörnig. Beim Fortschreiten der Entwickelung waren sie miteinander verschmolzen und wurden gleichmäßig. Die Kolonie bleibt im allgemeinen bandförmig und verbreitet sich selbst nach vielen Tagen nicht auf der ganzen Fläche. Das Kondenswasser bildet einen Niederschlag und trübt sich, aber es bildet sich keine Membran. Die Kultursubstanz ist nicht sehr dick und derb.

Im Gelatinestich sieht man nur einen undurchsichtigen Faden und sonst kein besonderes Zeichen. Niemals findet man Verflüssigung. In der Schüttelkultur in Zuckeragar bilden die Bakterien reichliche Gasblasen. Die Bouillon wird diffus getrübt, ein Teil sinkt zu Boden, auf der Oberfläche bilden sich dünne Membranen, die an der Rohrwand wenig ankleben. Peptonwasser wird diffus getrübt, aber die Entwickelung bleibt gering. Nach Zusatz von Salzsäure keine Indolreaktion, ebensowenig Salpetersäurereaktion.

Auf der Kartoffel (ohne Kochsalz- oder Sodalösung) entwickeln sich die Kulturen gut in einem Tage und bilden grauweiße Beläge.

Morphologie. Die in dem Tierkörper vorhandenen Bakterien sind von großer kugeliger Form und ihre Gestalt ist ziemlich unregelmäßig, elliptisch oder rundlich.

Meistens sind die Bakterien isoliert oder zweigliederig, selten vielgliederig verbunden, aber sie bilden keine sehr langen Ketten. In der Leber finden sich Bakteriengruppen im Blute angehäuft, und zwar in oder an dem Zellleibe.

In künstlicher Kultur sind viele elliptische oder kurzstäbchenförmige Exemplare vorhanden; im Agar bilden die Bakterien dicke Stäbchen, in Bouillon sind sie so kurz und dick, daß sie der Ellipse ähnlich sind, sie sind meistens zweigliederig verbunden, lange Ketten fehlen.

Die Bewegung ist lebhaft.

Man sieht keine Kapseln und Dauersporen. Die Bakterien sind mit gewöhnlicher Anilinfarblösung leicht färbbar. Manchmal zeigen die Bakterien im Tierkörper oder auch in künstlichen Kulturen eine Art Polfärbung. Nach der Gramschen Methode entfärben sie sich.

Die Charaktere meiner Bakterien sind wie oben beschrieben, und will ich jetzt die Frage weiter untersuchen, ob sie mit irgend einer der Bakterienarten, die heute schon bekannt sind, übereinstimmen oder nicht.

Bis heute fand ich unter den Erregern tierischer Infektionskrankheiten keine meinen Bakterien ähnliche Arten.

Außer den Yersinschen Pesterregern kommen nur „Bacillus typhi murium“ Loeffler und „ein aus Zieselmäusen gezüchteter und zur Vertilgung von Feld- resp. Hausmäusen geeigneter Bacillus“, über den Mereskowsky 1895 berichtete, in Betracht.

Wenn ich meine Bakterien mit den Yersinschen Bacillen vergleiche, so finde ich als wichtigsten Unterscheidungspunkt, daß jene sich lebhaft bewegen, diese aber nicht.

In der Morphologie sind die beiden sehr verschieden; die ersteren sind dicker als die letzteren, jene sind meistens fast kugelig.

Meine Bacillen haben nicht die Fähigkeit der deutlichen Polfärbung und bilden nicht die eigentümlich winklig geknickten Ketten der Pestbacillen.

Da auch die Virulenz für Mäuse nur gering ist, gegen Meerschweinchen und Ratten fast völlig fehlt, so ist an der Differenz zwischen diesen beiden Bacillenarten nicht zu zweifeln. Nur für die Hausratten haben die Bacillen starke Virulenz.

Wenn man meine Bacillen mit Loeffler's B. typhi murium vergleicht, so findet man folgende Verschiedenheiten:

B. typhi murium ist sehr ähnlich den Typhusbacillen und neigt zur Bildung langer Fäden, während meine Bacillen weder in Natur noch in Kultur lange Fäden bilden.

Loeffler's B. hat für weiße oder Feldmäuse sehr starke Virulenz und bei Einspritzen in das Subkutangewebe sterben die Tiere in einigen Tagen, aber für andere Tiere (Meerschweinchen, Ratten, Tauben und Vögel) und Menschen fehlt die Virulenz vollständig.

Meine Bacillen sind ebenfalls avirulent für Meerschweinchen und Ratten, also ziemlich ähnlich.

Ferner sind Loeffler's B. in den Organen resp. der Leber reichlich vorhanden und bilden im Leberblut Anhäufungen, wobei Schwund der anliegenden Leberzellen und Kernvermehrung sich zeigt; meine Bacillen zeigen manchmal ähnliche Erscheinung.

Morphologisch haben Loefflers B. mit den meinigen neben gewissen Aehnlichkeiten ausgesprochene Differenzen. Zur Zeit ist eine Entscheidung, ob es sich um verschiedene Bakterienspecies handelt, kaum möglich.

Mereskowskys B. ist größtenteils dem Loefflerschen B. gleich, er unterscheidet sich nur von dem letzteren durch die Bildung von Gas in Zuckergelatine.

Es giebt außerdem noch zahlreiche Infektionserreger bei Tieren, die meinen Bakterien morphologisch ähnlich sind (Streptococcus pyogenes, Streptococcus lanceolatus, Streptococcus der infektiösen Induration des Euters (Nocard u. Mellereau), Micrococcus der Lungenseuche der Rinder (Poels u. Nolen), Streptococcus corycae contagiosae equorum (Schütz), Haematococcus bovis (Babes) u. s. w.). Doch sind die sonstigen Unterschiede meinen Bacillen gegenüber so klar, daß man mit einem Blick sich von der Artdifferenz überzeugen kann.

Außer den genannten Bakterienarten ist noch eine Art zu erwähnen, die in Formosa bei Hausratten gefunden wurde. Auch sagten mir einige Herren (Dr. H. Okada, Dr. H. Onjyo u. s. w.), daß sie bei der Sektion von Rattenleichen oft noch andere unbekannte Bakterien gefunden hätten.

Da genauere Beschreibungen fehlen, kann ich auf diese Befunde nicht näher eingehen.

---

# Waldmosquitos und Waldmalaria.

Von Dr. **Adolph Lutz,**
Direktor des bakteriologischen Instituts von São Paulo.

Mit 7 Figuren.

Als ich vor einigen Jahren anfing, mich mit der Malariamosquitofrage zu beschäftigen, wollte der Zufall, daß sich nicht weit von São Paulo eine Malariaepidemie unter ganz besonders interessanten Umständen zu entwickeln begann. Es wurde damals eine zweite Eisenbahnlinie von São Paulo nach Santos gebaut. Der wichtigste Teil derselben, die sogenannte Serrabahn, geht von dem sich nur wenig über das Meer erhebenden Vorlande nach der Kammhöhe der Bergkette, die an ihrem niedrigsten Punkte immerhin 900 m beträgt und von den seitlich gelegenen Gipfeln noch um einige 100 m überragt wird.

Diese Bergkette trennt den niedrig gelegenen Küstenstrich von dem Hochlande, auf dem die Hauptstadt São Paulo bei 700—800 m liegt. Das Tracé durchschnitt einen ununterbrochenen, gänzlich mit Wald bekleideten und vollständig unbewohnten Abhang von starkem Gefälle, der nach der See zu völlig den Eindruck einer steilen und hohen Bergkette macht, weshalb er auch nur mit Hilfe eigentlicher Bergbahnen bezwungen werden konnte, bei welchen beide Male Kabelsysteme zur Verwendung kamen. Für die neue Bahn mußten außer der eigentlichen Linie 5 Maschinenhäuser sowie mehrere Tunnel und Viadukte hergestellt werden. Letztere waren durch die tiefen Runsen und Schluchten bedingt, durch welche mehrere kleine Bergbäche die reichlichen Niederschläge dieser nebel- und regenreichen Küstenkette abführen. Infolge des starken Gefälles sind kleinere und größere Wasserfälle an diesen Abhängen sehr häufig. Daß unter solchen Umständen ein vollständiger Mangel an stehenden Gewässern (im gewöhnlichen Sinne des Wortes) herrscht, läßt sich unschwer verstehen.

Die ursprüngliche Linie wurde bereits vor mehr als 30 Jahren als Bergbahn mit Kabelzug hergestellt und bietet sowohl für den Techniker als für den Touristen großes Interesse. Sie ist bedeutend kürzer und dementsprechend steiler als die neue Linie. Wie mir von Augenzeugen versichert wurde, herrschte bereits bei deren Herstellung das Wechselfieber unter den Arbeitern, welches aber nach der Vollendung vollständig verschwand. Seit vielen Jahren war weder unter den wenigen, längs der Bahnlinie wohnenden Familien des Personales ein Malariafall bekannt geworden, noch hörte man von Erkrankungen unter den vielen daselbst, zum Teil täglich, verkehrenden Reisenden.

Bei Herstellung der neuen Linie kamen Tausende von Arbeitern zur Verwendung, welche längs der im Walde ausgehauenen provisorischen Verbindungswege in Baracken, sogenannten Ranchos, angesiedelt wurden. Es dauerte nicht lange, bis unter denselben zahlreiche Fälle von Wechselfieber auftraten. Dabei waren die in der tieferen und bedeutend wärmeren Zone gelegenen Ranchos bevorzugt; doch zog sich in der warmen Jahreszeit die Krankheit bis auf die Paßhöhe hinauf. Die Anzahl der Befallenen war sehr groß und betrug oft in wenigen Tagen die Mehrzahl der Bewohner einer Baracke; bei der Gutartigkeit der Krankheit und dem üblichen reichlichen Chiningebrauch war aber die Arbeitsunfähigkeit

meist eine vorübergehende. Rückfälle waren sehr zahlreich, auch wenn die Infektionsstätte verlassen wurde, und es kam auch gelegentlich zu anämischen und kachektischen Zuständen; dagegen kamen Todesfälle kaum vor.

Die nicht in der infizierenden Zone schlafenden Ingenieure blieben, soweit mir bekannt, alle verschont.

Ich hatte Gelegenheit, eine Anzahl der erkrankten Arbeiter zu untersuchen und mich zu überzeugen, daß es sich in der Tat um Malaria, und zwar meist (wenn nicht immer) um die gutartige Form handelte, wie aus dem mikroskopischen Befunde ziemlich spärlicher großer Plasmodien hervorging. Nur an den tiefst gelegenen Stellen, wo der Wald an eine sumpfige Niederung stößt, wurden einige Fälle von Tropen- resp. Aestivoautumnalfieber beobachtet. Dementsprechend konnte daselbst auch eine *Anopheles*-Art mit in Sumpfwasser lebenden Larven nachgewiesen werden. In den Baracken der Arbeiter, deren Wände nicht aus Brettern, sondern aus Flechtwerk bestanden und dem entsprechend zahlreiche weite Oeffnungen hatten, wurden Mosquitos bei Tage nicht gefunden, obgleich sie abends und nachts stark belästigten. Dieselben flogen eben, wie ich anderswo unter ähnlichen Umständen beobachtete, morgens früh ins Freie. Es geschieht dies um so leichter, als die Dämmerungsmosquitos auch frühmorgens eine Schwärmzeit haben, wie ich dies in exquisiter Weise z. B. bei *Anopheles argyrotarsis* beobachten konnte.

Zur Aufklärung der Verhältnisse beschloß ich nun, einige Nächte an Ort und Stelle zuzubringen, und zwar wählte ich zu diesem Zwecke ein in der Mitte der alten Linie gelegenes Haus eines befreundeten Ingenieurs, in welchem dessen Frau Intermittens acquiriert hatte. Gleich am ersten Abend, welcher einem sehr warmen Tage folgte, erschienen, während wir bei der Lampe saßen, zahlreiche stechende Insekten. Es waren dies *Simulium pertinax* Kollar, einige mir bekannt vorkommende, mehr oder weniger banale Culiciden und ein mir unbekannter Mosquito, ausgezeichnet durch gefleckte Flügel und durch die exquisit perpendikuläre Stellung, welche er beim Saugen annahm. Trotz seiner Kleinheit und Zartheit erwies er sich als ein äußerst gieriger Blutsauger, welcher sich ohne Zögern auf die gegenwärtigen Menschen und einen kleinen Hund niederließ, ohne vorerst die Ohren der Menschen zu umsummen. Deswegen und weil sein Stich weniger schmerzhaft ist, als der einiger anderer Arten, und von manchen Menschen häufig nicht empfunden wird, kann dieser Mosquito, der besonders in der Dämmerstunde fliegt, leicht übersehen werden.

Ich war sofort überzeugt, die gesuchte Mückenart gefunden zu haben, obgleich damals über die Charaktere der Malariaüberträger noch nichts bekannt war. Als bald darauf erkannt wurde, daß dieselben unter den *Anopheles*-Arten zu suchen seien, sah ich mit Befriedigung, daß die neue Art ein *Anopheles* war. Es ist derselbe, welcher später von Theobald unter dem Namen *A. Lutzii* beschrieben wurde, eine der kleinsten und zartesten Arten. Wie ich später feststellte, ist dieselbe weit verbreitet, jedoch nur in den Waldungen der Küstenkette und teilweise des Vorlandes, indem sie die aus letzterer entspringenden Gewässer begleitet. Ich besitze die Art von einer Reihe von Fundorten aus der Zone von Santos bis Conceicão und habe sie durch die Güte des Herrn Schmalz in Joinville (Staat Santa Catharina) auch aus

dortiger Gegend erhalten. Dagegen ist dieselbe bisher noch niemals tiefer im Innern aufgefunden worden[1].

Einmal im Besitze dieser, wie sich später herausstellte, mit Recht verdächtigten Mückenart, galt es nun, auch die Brutstätte derselben zu finden. Nun war mir bereits bekannt, daß hier zu Lande in allen feuchten Wäldern zahlreiche Mücken schwärmen, welche zu bestimmten, anderswo nicht vorkommenden Arten gehören; ferner, daß an solchen Orten Pfützen und Lachen nur ganz ausnahmsweise vorkommen. Ich war daher berechtigt, auch für diese besondere Eigentümlichkeiten in der Lebensweise der Larven anzunehmen. Daß dieselben wie alle anderen bekannten Culicidenlarven im Wasser lebten, konnte kaum fraglich erscheinen, und es handelte sich daher nur darum, zum Brüten taugliche Wasseransammlungen nachzuweisen. Mit Hilfe einigen Nachdenkens und unter Benutzung früherer Erfahrungen gelang es mir bald, die Lösung dieses Problems zu finden.

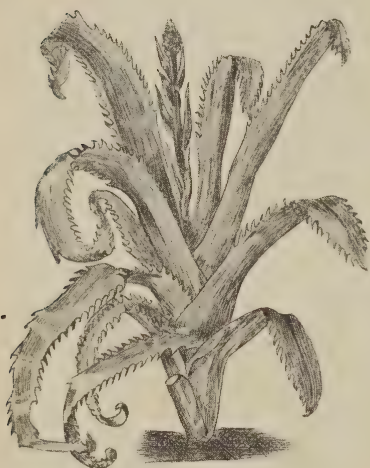


Fig. 1.



Fig. 2.

Fig. 1. Aechmea tinctoria Mez., eine der häufigsten epiphytischen Bromeliaceen, die sehr häufig Mückenlarven beherbergt. Die Pflanze wird etwa 75 cm hoch. Aus Martius, Flora Brasiliensis.

Fig. 2. Nidularium ampullaceum E. Morr., kleine, aber reichlich wasserführende, epiphytische Art. Gesamthöhe etwa 20 cm. Aus Martius, Flora Brasiliensis.

Es war mir bereits bekannt, daß manche Pflanzen die Eigentümlichkeit haben, Wasser aufzuspeichern, welches wiederum von anderen Geschöpfen in Gebrauch gezogen wird. Hatte ich doch selbst auf den Hawaiischen Inseln beobachtet, daß eine Pandanacee, Freycinetia Arnottii, regelmäßig Wasser sammelte, welches als ständiger und

---

1) Durham (Thompson Yates Laboratories Report. Vol. IV. Pt. 2 pag. 534) giebt an, *Anopheles Lutzii* auch in Para gefunden zu haben, was leicht möglich wäre; doch stimmen seine Angaben nicht zu dieser Art. Die Larven seiner Species wurden umsonst in Lachen gesucht.

einziger Aufenthalt eines kleinen Krebses (einer *Orchestia*) dient, welcher in Form und Größe dem *Gammarus pulex* nahe steht.

Hier zu Lande sind es besonders die epiphytischen Bromeliaceen, welche Wasser aufstapeln, das sogar zum Trinken benutzt wird, noch häufiger freilich sich dem Naturfreunde, besonders dem Orchideensammler, in Form einer unerwarteten und nicht immer ganz reinlichen Douche bemerklich macht.

Daß in demselben auch allerlei kleinere Geschöpfe vorkommen, war mir nicht unkekannt; auch erinnerte ich mich, daß Fritz Müller eine interessante Ostrakodenart in Bromeliaceenwasser gefunden hatte. Wo solche gediehen, konnten natürlich auch Mückenlarven leben und da in den betreffenden Wäldern stets Bromeliaceen zu finden sind, ging ich mit vollständiger Hoffnung auf Erfolg an die Untersuchung derselben.



Fig. 3. Durchschnitt durch die centralen Partieen einer größeren Bromeliacee. An der Basis der Blattstümpfe sieht man die zahlreichen Hohlräume, in welchen sich Wasser sammelt. Nach der Natur.

Zuerst erfuhr ich freilich eine Enttäuschung, da es mir nicht gelang, passendes Material zu erhalten. Zwar trug in der Gegend jeder stärkere Baum eine stattliche Anzahl von Bromeliaceen auf den größeren, mehr oder weniger horizontalen unteren Aesten; dieselben blieben aber unerreichbar, weil die niedrigsten sich noch wenigstens 30 Fuß über dem Boden befanden; andererseits war beim Fällen der Bäume das Wasser natürlich verschüttet worden. Zwar gelang es an einer kahlen Stelle Bromeliaceen auf dem felsigen Grunde aufzufinden, jedoch beherbergten dieselben nur von Laubfröschen herrührende Kaulquappen. Wenn also die Mosquitos in den Bromeliaceen brüteten, wie sich später als zweifellos erwies, so geschah dies hoch über den Köpfen der Leute.

Später gelang es mir dagegen, in derselben Zone vielfach leichter zugängliche Bromeliaceen aufzufinden und das reichlich in denselben enthaltene Wasser zu untersuchen [1]). Dabei wurden nicht nur zahlreiche

1) Bei dieser Untersuchung habe ich mich der Beihilfe verschiedener Freunde zu erfreuen gehabt. Den Herren Aehringsmann und Prof. v. Wettstein verdanke ich larvenhaltiges Bromeliaceenwasser von verschiedenen Lokalitäten. Herr Schmalz in Joinville züchtete für mich eine Anzahl von Mosquitos aus Bromeliaceenwasser, welche mit den hiesigen Waldmosquitos übereinstimmten. Den Herren Loefgren und

Mückenlarven gefunden, sondern auch diejenige des neuen *Anopheles* nachgewiesen. Heute, nach mehrjährigen Beobachtungen, bin ich in der Lage, zu behaupten, daß die typischen Waldmosquitos so gut wie ausnahmslos ihren Larvenzustand im Bromeliaceenwasser verleben.

Für das Sammeln und Aufziehen der Larven hat sich nach und nach eine eigene Technik herausgebildet, über welche eine kurze Bemerkung angebracht sein dürfte; mit dieser verbinde ich einige Angaben über die Bromeliaceen selbst.

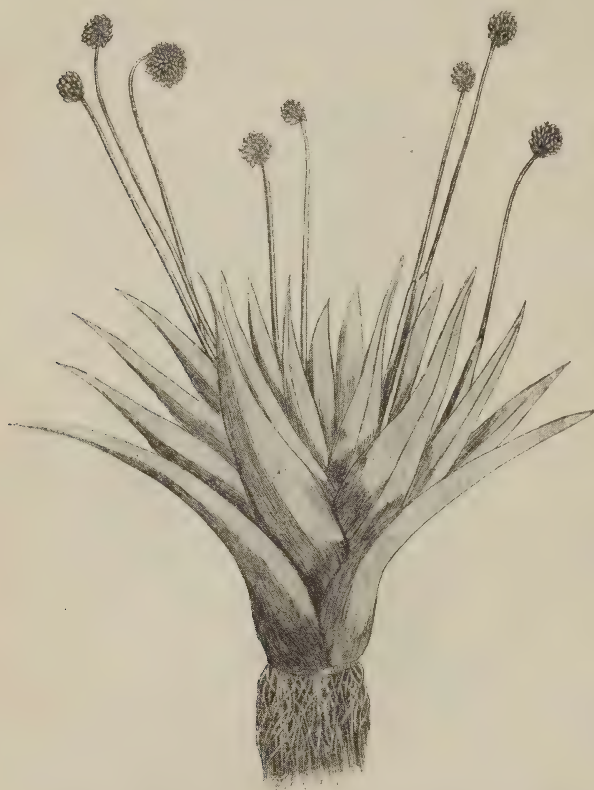


Fig. 4. Eriocaulon vaginatum Kcke. Brasilianische Sumpfpflanze, welche Mückenlarven beherbergt. Größte Länge der Blätter ca. 30 cm. Nach der Natur.

Die Monocotyledonenfamilie der Bromeliaceen, deren bestbekannter Vertreter die Ananas ist, zählt zahlreiche Arten, welche meist dem tropischen Amerika angehören. Auch in dem brasilianischen Staate São Paulo hat dieselbe viele Repräsentanten, welche weitaus zum größten Teile epiphytisch leben. Ihre schwertförmigen Blätter, bei einigen Arten grasartig schmal, erreichen bei anderen die Breite eines Decimeters, während die Länge bis zu 1 m betragen kann, öfter jedoch sich auf einige Decimeter bis zu $^1/_2$ m beschränkt.

Diese Blätter sind in kurzen und meist dicht gedrängten Spiralen angeordnet und haben meist schon an der Basis ihre vollständige Breite. Infolgedessen umfassen sie den Stengel und die benachbarten Blätter scheidenartig und bilden außer einem Endtrichter mit ihren aufgerichteten Anfangsstücken zahlreiche dütenartige Hohlräume, welche das in ihren Rinnen herablaufende Regenwasser auffangen. Dasselbe erhält sich lange Zeit darin und schwindet nur bei anhaltender Dürre gänzlich. Meist genügt schon der reichlich gebildete Tau, um der Austrocknung vorzubeugen. Daß dieses

---

Edwall von der hiesigen geographischen Kommission bin ich für Unterstützung mit botanischer Litteratur verpflichtet.

Wasser von der Pflanze ausgenützt wird, ist kaum zu bezweifeln; aber auch der darin reichlich sich bildende Humus dürfte derselben von Nutzen sein.

Die für uns hauptsächlich in Betracht kommenden Arten gehören zu verschiedenen Genera, wie Vriesia, Nidularium, Billbergia, Aechmea, Bromelia etc.

Obgleich auch kleinere Arten ergiebig sein können, wird man sich doch natürlicherweise von größeren Exemplaren eine reichere Ausbeute versprechen. Die Untersuchung derselben ist jedoch wegen ihres großen



Fig. 5. Freycinetia Arnotti Gaud. Wasserführende Pandanacee von den Hawaiischen Inseln. Die Figur zeigt einen blühenden Zweig der mächtigen Schlingpflanze stark verkleinert. Blattlänge 45—75 cm. Aus Sinclair, Indigenous plants of the Hawaiian islands.

Formates mit einigen Schwierigkeiten verbunden. Bei einfachem Umkippen entleeren sich zahlreiche Blatttrichter gleichzeitig und das an den Blättern herabrinnende Wasser läuft nach allen Richtungen auseinander. Besser geht es, wenn man die abgelöste Pflanze auf einem größeren ausgebreiteten Gummituche ausgießt; doch bleiben auch so viele Larven und die meisten Puppen zurück, indem sie an den Blättern haften bleiben. Dagegen hat sich folgendes Verfahren bestens bewährt:

Es werden zuerst mittels einer Schere oder eines scharfen Messers sämtliche längeren Blätter so abgekappt, daß nur ein spannenlanger Stumpf übrig bleibt. Dann wird die Pflanze sorgsam abgelöst und das

Wasser, welches bei großen Exemplaren mehr wie $^1/_2$ l beträgt, ohne Schwierigkeit ausgegossen, worauf noch der ganze Stumpf in einem geeigneten Gefäße ausgespült wird. Das zusammengegossene Wasser enthält dann die ganze Fauna, welche in zweckmäßiger Weise weiter verarbeitet werden kann.

Das aus den Bromeliaceen stammende Wasser enthält zahlreiche dürre Blätter, Stengel und Aestchen, sowie massenhaft einen daraus gebildeten, sehr feinen und reinen Humus. Man findet darin kleine Crustaceen (Ostrakoden, Copepoden und Lynceiden), ferner Tipuliden-, Culiciden- sowie *Corethra-*, *Chironomus-* und ähnliche Nematocerenlarven. Auch Wasserkäferlarven und Kaulquappen. Laubfrösche und Landplanarien bewohnen gern diese Pflanzen, welche Aquarien und Terrarien in sich vereinigen. Ein Teil ihrer Bewohner ernährt sich von dem mit zahlreichen mikroskopischen Lebewesen (Rotatorien, Infusorien, Diatomeen, Desmidiaceen und dergleichen) durchsetzten Humus, andere, wie die Wasserkäferlarven, erbeuten kleinere Tiere. Die *Megarhinus*-Larven räumen stark unter den kleinen Culiciden auf; sie werden daher zur Zucht isoliert und mit wertlosen Larven gefüttert.



Fig. 6. Nepenthes gracilis, als Beispiel einer Kannenpflanze. Aus Engler und Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien.

Die erbeuteten Formen können im Bromeliaceenwasser weiter gezüchtet werden. Es ist zweckmäßig, dasselbe in ziemlich flache Schalen zu bringen und einige grüne Wasserpflanzen zuzusetzen, da sonst leicht die Spaltpilze allzusehr überhand nehmen und dicke Kahmhäute bilden. Wahrscheinlich giebt das lebende Bromeliaceenblatt kleine Sauerstoffbläschen an das Wasser ab, welche dasselbe frisch erhalten. Es ist wohl deshalb, daß die Larven der Bromeliaceenbrüter nur selten an die Oberfläche kommen und sich auf dem Grunde auf den Rücken legen, als ob sie mit der abwärts gerichteten Atmungsröhre die Luft auf dem Grunde suchten. Letzteres wird auch, obwohl seltener, bei Sumpfwasserbewohnern beobachtet.

Die meisten Mückenlarven des Bromeliaceenwassers entsprechen dem Culextypus und sehen einander ziemlich ähnlich, am meisten unterscheiden sie sich noch in der Form der Atmungsröhre und nicht selten auch durch die Farbe. Sie sind nämlich beinahe alle deutlich grün, blau, rot oder lila gefärbt. Diese manchmal etwas blassen Farben scheinen an den Fettkörper gebunden und mit der Lebensweise verknüpft zu sein. Sie können nach und nach verblassen, wenn die Larven unter andere Verhältnisse gebracht werden. Bei sumpfbewohnenden Species, wie *Anopheles-* und *Uranotaenia*-Arten, treten öfters ähnliche Färbungen auf, welche aber keinen Artunterschied abgeben.

Eine sehr ausgesprochene, und zwar rote Eigenfärbung beobachtet man bei zwei von anderen Bromeliaceenlarven deutlich verschiedenen Arten. Es sind dies *Anopheles Lutzii* Theob. und *Megarhinus violaceus* Hfmnsg. (= *purpureus* Theob.). Erstere hat den *Anopheles*-Typus, ist aber gedrungener, d. h. verhältnismäßig kürzer und breiter; sie wird mit zunehmendem Alter immer lebhafter karminrot. Letztere hat eine eigentümliche, mehr cylindrische Form mit stark erweiterter Atmungsröhre, was sie von den *Anopheles*-Arten ebenso trennt, als es bei dem geflügelten Insekt die Form des Rüssels thut. Diese Larve erreicht auch die ungewöhnliche Größe von 12—15 mm. Die Färbung tritt in der Form von roten Tupfen auf, während die Puppe mehr diffus gelbrot ist und an den Schwanzflossen eine dunkle Färbung zeigt. Neben diesen findet sich öfters eine ebenfalls lebhaft rote *Corethra*-Larve, welche in ihren Gewohnheiten sehr an die *Anopheles*-Larven erinnert, sich aber leicht durch die Kopfform unterscheidet. Auch bei diesen Larven kann man zuweilen unter veränderten Verhältnissen etwas Abblassen beobachten.



Fig. 7. *Anopheles Lutzii* Theob., typischer Bromeliaceenbrüter und Ueberträger der Waldmalaria. Nach der Natur. Länge ohne Rüssel 3,5—4 mm, mit Rüssel 6—6,5 mm.

In Beziehung auf die Zahl der jeweilig in einer Pflanze gefundenen Larven möchte ich bemerken, daß dieselbe zwar wechselt, aber kaum jemals eine so große ist, daß man annehmen könnte, eine Mücke habe alle ihre Eier daselbst abgelegt. Bei *Megarhinus* finden sich größere Larven stets sehr vereinzelt, aber auch bei anderen Arten ist die Zahl eine so geringe, daß die Eier auf mehrere Pflanzen verteilt werden müssen. Wahrscheinlich reifen bei den typischen Epiphytenbewohnern nur wenige Eier gleichzeitig, welche dann wohl auch durchschnittlich etwas größer sein dürften. So beobachtete ich, daß *Trichoprosopon nivipes* seine Eier einzeln auf das Wasser legt, wie die *Anopheles* und *Stegomyia fasciata*, und zwar nicht mehr wie ein Dutzend auf einmal. Die Entwickelung war in diesem Falle eine sehr rasche, während sie bei *Megarhinus violaceus* sehr lange dauern kann.

Die Waldmosquitos leben wohl meist ziemlich lange, denn man findet auch nach längerer Trockenheit noch zahlreiche, zum Teil stark verflogene Exemplare; auch habe ich *Trichoprosopon nivipes* 2 Monate lang am Leben erhalten. Bei mangelnder Flüssigkeitszufuhr sind sie

aber für trockene Luft sehr empfindlich, indem sie darin nur wenige Stunden am Leben bleiben. Ich habe sie Tau und reines Wasser saugen sehen; doch ziehen sie Zuckerwasser vor. Zur Fütterung dieser wie auch der meisten anderen Mosquitos eignet sich Honig vorzüglich, wenn er so gereicht wird, daß sie nicht daran kleben können. (Zu diesem Zwecke tränkt man ein Stückchen Schwamm oder etwas Watte damit und wickelt dieselben in feine Drahtgaze, die außen mit Löschpapier getrocknet wird, so daß die Mücken den Honig nur mit der Spitze des Rüssels erreichen. Bananen und Datteln, die wir nach dem Vorgange von Bancroft bei anderen Arten mit Erfolg verwenden, eignen sich für Waldmosquitos nicht so gut. Manche derselben sind sehr blutdürstig und aufdringlich, wie *Wyeomyia longirostris* und *luteoventralis*, deren Stich auch recht empfindlich ist, während *Sabethes* und *Trichoprosopon* etwas scheuer sind; dagegen sind *Culex serratus* und *confirmatus* sowie die *Ianthinosoma*-Arten sehr zudringliche Stecher, die auch Pferde und Hunde angreifen und sich selbst an Vögel erfolgreich ansetzen lassen. *W. longirostris* kann mit ihrem langen Rüssel ein dichtes Haarkleid und gelegentlich auch Kleidungsstücke leicht durchdringen.

Beim Aufenthalte in manchen Wäldern wird man ohne besondere Vorsichtsmaßregeln zu allen Zeiten belästigt, da die eigentlichen Waldmosquitos zu jeder Stunde stechen. Dies gilt auch von *Anopheles Lutzii*, obgleich derselbe die Dämmerzeit entschieden bevorzugt, was auch bei *Culex confirmatus* der Fall ist. Bei bedecktem Himmel oder an schattigen Stellen erscheinen sie indessen auch in den heißen Stunden mancherorts zahlreich genug. Auch der Nachtfang mit der Laterne ergab stets dieselben Arten. Von typischen Bromeliaceenbrütern habe ich die verbreiteten Arten *Megarhinus violaceus* und *Culex imitator* niemals fliegen sehen; ebensowenig den seltenen *Culex ocellatus* nov. spec., zu deren Erlangung man sich daher an die Züchtung zu halten hat. Stechen sie den Menschen und größere Tiere, so könnte dies nur zur Nachtzeit geschehen.

Eigentümlich ist es auch, wie die Waldmosquitos zuerst ganz vereinzelt erscheinen (wahrscheinlich durch den Geruchssinn orientiert, da sie schwitzende Menschen und Tiere besonders aufsuchen), nach und nach aber in solcher Menge auftreten, als ob die Bevölkerung des ganzen Waldes alarmiert worden wäre. Es ist dies auch sicher der Fall, da sie sich selbst an Orten ansammeln, wo nicht nur die Larven, sondern auch die Bromeliaceen recht spärlich vorkommen. Daß dabei das Gesicht keine Rolle spielt, darf als zweifellos angesehen werden; dagegen scheinen sie sich durch das Gesumme auf weite Entfernungen gegenseitig bemerkbar zu machen. Zuweilen erscheinen dann auch die Männchen, ohne zu stechen, doch gelang es mir nie, die Paarung zu beobachten, welche wohl nur in der Dämmerungsstunde stattfindet.

Alle Arten mit Borsten am Metathorax haben die Eigentümlichkeit, ähnlich den Syrphiden längere Zeit an einer Stelle in der Luft zu schweben, wobei die langen Hinterbeine bogenförmig gekrümmt über dem Rücken liegen. In gutem Lichte kann man die weißen Tarsen verschiedener Arten, wie *Trichoprosopon nivipes, Ianthinosoma Lutzii, Sabethes remipes,* ja selbst die hellschimmernden Teile an den Füßen von *Wyeomyia longirostris* deutlich wahrnehmen, während man andere Arten an ihrem grünen oder blauen Schimmer erkennt. Während die anderen Mücken einem erst lange die Ohren umsummen, läßt sich der Wald-*Anopheles* sofort und fast geräuschlos nieder, wobei er sich durch seine Kleinheit

und senkrechte Stellung den Blicken entzieht und meist erst bemerkt wird, wenn er schon gestochen hat.

Die ausschließlich im Wasser der Bromeliaceen lebenden Larven dürften etwa $^1/_5$ der hier vorkommenden ca. 40 Arten ausmachen; zählt man aber diejenigen mit, welche gelegentlich auch in Lachen brüten, so dürfte das Verhältnis wenigstens $^1/_3$ betragen. Zu den ersteren gehören die Genera *Wyeomyia, Sabethes, Trichoprosopon* und wahrscheinlich auch *Limatus*; ferner die schon erwähnten *Megarhinus-, Anopheles-* und *Culex*-Arten; wahrscheinlich auch *Stegomyia silvestris* nov. spec. und *Ianthinosoma Lutzii* Theob. und vielleicht auch *musica* Say. *Culex confirmatus* Arr. brütet oft, aber nicht ausschließlich, in Bromeliaceen und dasselbe gilt wohl von *serratus* Theob. und *crinifer* nov. spec., welche bald unter den Wald-, bald unter den Sumpfmosquitos getroffen werden. Mehrere kleine Arten, wie *Culex humilis* und *atratus* Theob., sowie *pleuriscriptus* nov. spec. halten sich mehr an sumpfigen Stellen auf, benützen aber die daselbst vorkommenden wasserhaltigen Pflanzen. Auch auf trockener Erde und auf Felsen wachsende Bromeliaceen enthalten gelegentlich Mückenlarven, doch habe ich darüber weniger Untersuchungen angestellt.

Es soll hier noch besonders erwähnt werden, daß es auch unter den Eriocaulaceen Mosquitopflanzen giebt. So fanden sich in einer im Sumpfe wachsenden Art (von Herrn Edwall als Eriocaulon vaginatum Kek. bestimmt) 2mal neben kleinen Cyclopiden ziemlich zahlreiche Larven von *Culex cingulatus* Fabr.-Theob., obgleich die Lache, an welcher die Pflanzen standen, von Mückenlarven ganz frei war. Hier war der Vorteil, welchen ein solcher vor räuberischen Nachbarn geschützter Standort bot, ohne weiteres ersichtlich.

Die Individuenzahl der aus dem Bromeliaceenwasser stammenden Mücken ist eine ungeheure und dürfte mancherorts diejenige der anderen Arten weit übertreffen; zudem ist die Waldregion selbst sehr ausgedehnt. Aber auch größere Brackwasser, Sumpf- und Flußgebiete befördern die Mückenplage, selbst wenn sie sich nicht direkt als Brutstätten eignen; ihre Wasseransammlungen begünstigen nämlich das Gedeihen der Bromeliaceen, welche die in und um dieselben wachsenden Bäume bekleiden und im Verein mit anderen wasserführenden Pflanzen das trockene Land oder den Sumpfboden bedecken.

Daß die Kenntnis dieser Verhältnisse von Wichtigkeit ist, dürfte keinem Zweifel unterliegen. Von der Vernichtung in Epiphyten lebender Larven durch die zu diesem Zwecke empfohlenen Substanzen kann nicht wohl die Rede sein und auch die Ausrottung der Bromeliaceen ist nur selten ausführbar. Für gewöhnlich hilft da nur das Abholzen, welches sich als Schutzmittel gegen Wald- und Flußmalaria hier zu Lande schon oft bewährt hat. Bei Feststellung der Malariabedingungen in Sumpfgegenden dürfen die wasserführenden Pflanzen nicht unberücksichtigt bleiben.

Aehnliche Verhältnisse wie die hiesigen dürften sich auch anderswo vielfach wiederfinden. Ich hoffe, daß die Ergebnisse der hier angeführten Beobachtungen dazu beitragen werden, das Dunkel zu lichten, welches noch mancherorts die Bedingungen der Malariaendemieen verhüllt.

Es erübrigen noch einige allgemeine Mitteilungen über wasserführende Pflanzen, welche sich als Brutplatz für Mücken eignen könnten. Man findet bei solchen die Wasserreservoirs am häufigsten am Grunde

breitbasiger, stengelumfassender Blätter, eine Einrichtung, die sich am häufigsten bei Monocotyledonen findet. Ein Beispiel von Dicotyledonen bietet Dipsacus silvester. Manchmal sind es Bracteen, die das Wasser aufnehmen (z. B. bei Heliconien), andere Male ist das ganze Blatt oder dessen Endteil in ein eigentümliches, kannenartiges Organ umgewandelt, wie bei den Sarracenien und *Nepenthes*-Arten. Seine Herkunft verdankt das Wasser entweder atmosphärischen Niederschlägen, wie bei den Bromeliaceen, oder einem Sekretionsprozeß, wie bei *Nepenthes*; in manchen Fällen dürfte seine Herkunft nicht ohne weiteres klar sein; vielleicht wirken auch gelegentlich beide Ursachen zusammen. Für ihre Brauchbarkeit als Brutplätze für Mücken scheint dies gleichgültig, selbst wenn die abgeschiedene Flüssigkeit tote Tiere verdauen kann [1]). Wichtiger ist, daß diese Wassermengen, welche durchaus nicht groß zu sein brauchen, vor vollständigem Eintrocknen geschützt bleiben und doch genügend Luft und Licht zulassen, auch wohl etwas Nährsubstanzen enthalten. Sie dürfen auch nicht gar zu vereinzelt vorkommen, wenn eine Anpassung an dieselben möglich sein soll.

Von den europäischen Pflanzen genügt, soweit mir bekannt und erinnerlich, keine diesen Ansprüchen, während sich in Amerika, wie bereits erwähnt, wenigstens in 2 Familien, geeignete Vertreter finden; in Nordamerika wären auch die Sarracenien daraufhin zu untersuchen. Für andere Länder möchte ich besonders auf Nepenthaceen und Freycinetien hinweisen, welche beide in zahlreichen Arten auf vielen Inseln und in einzelnen Küstengebieten des Indischen und Stillen Oceans verbreitet sind. Dagegen scheint der Baum der Reisenden (Ravenala madagascariensis Sonn.), trotz seiner mächtigen (auch zum Stillen des Durstes benützten) Wasserreservoirs an den Blattbasen, soweit ich hier beobachten konnte, sich nicht zur Larvenzucht zu eignen. Seine Hohlräume kommunizieren mit der Außenwelt nur zeitweilig und durch ganz enge Oeffnungen und das darin enthaltene sehr reine Wasser erschien stets frei von größeren Organismen.

Wo man in wasserführenden Pflanzen öfter Mosquitolarven antrifft, untersuche man, ob nicht gewisse Arten ausschließlich an diese Lebensweise angepaßt sind.

São Paulo, den 16. September 1902.

---

1) Wie ich erst nach Abschluß meiner Beobachtungen fand, hat Haberlandt das Vorkommen lebender Mückenlarven in Nepenthes ampullacea und Rafflesiana beobachtet. (Haberlandt, Eine botanische Tropenreise. p. 37.)

*Nachdruck verboten.*

# Ueber einige Eigenschaften agglutinierender sowie auch anderweitiger spezifischer Serumarten[1]).

[Aus dem bakteriologischen Institute der Universität Moskau.]

Von **W. Beljaeff.**

## I.

Die Erscheinung der sogenannten Agglutination, welche in der letzten Zeit allgemeines Interesse beansprucht hat, ist trotz einer Anzahl verschiedener Hypothesen noch nicht auf ihre Ursache zurückgeführt worden. Im Jahre 1897 hat Dr. Kraus die wichtige, später vielfach bestätigte Beobachtung gemacht, daß mehrere spezifische Sera mit verschiedenen Kulturfiltraten, sowie auch mit anderweitigen Körpern immunisierter Tiere, mit den betreffenden Substanzen charakteristische flockige Niederschläge erzeugen. Paltauf hat bald darauf die Vermutung ausgesprochen, daß die Krausschen Niederschläge mit der Erscheinung der Agglutination in innerem Zusammenhang ständen. Nach einer von diesem Forscher entwickelten Theorie soll das Zusammenballen der Mikroben gerade durch die beim Vermischen der Kulturflüssigkeit mit dem entsprechenden spezifischen Serum entstehende unlösliche Substanz hervorgerufen werden.

Nun ist aber gegen die Paltauf-Kraussche Theorie eine Reihe wichtiger Tatsachen hervorgehoben worden. Namentlich sind Bordet und Tschistowitsch auf Grund eingehender, die Immunisation verschiedener Tierspecies mit fremdartigem Blute betreffender Untersuchungen zu dem Schlusse gekommen, daß die beiden Phänomene Agglutination und Niederschläge im allgemeinen nicht parallel verlaufen.

In der Absicht, den gegenseitigen Beziehungen zwischen Agglutination und den Erscheinungen der spezifischen Niederschläge etwas näher zu treten, habe ich mich entschlossen, eine Reihe vergleichender Versuche mit Sera typhuskranker Menschen und mit Bact. typhi immunisierte Tiere auszuführen, um die Frage entscheiden zu können, ob der Agglutinationsprozeß und die spezifischen Niederschläge zueinander parallel verlaufen. Die erhaltenen Resultate sind in der Tabelle No. 1 zusammengestellt. Aus derselben ergibt es sich mit voller Evidenz, daß ein von Kraus angenommener Parallelismus in keinem Falle besteht; zuweilen verursacht selbst stark agglutinierendes Serum keine Niederschläge, wogegen in anderen Fällen auch schwach agglutinierende Sera starke Niederschläge erzeugen (vergl. die Versuche II, III, VIII und IX). Aus meinen Versuchen läßt sich somit folgern, daß der Agglutinationsprozeß und die spezifischen Niederschläge keine gemeinsame Ursache haben können. Zu ähnlichem Schlusse ist etwas später, aber unabhängig Radziewski gekommen, indem er feststellen konnte, daß die Krausschen Niederschläge (bei Bact. coli) keinen Verbrauch der agglutinierenden Substanz verursachen. Diese

1) Vergl. Russ. Arch. f. Pathol. etc. Bd. XII. p. 665, Bd. XIV. No. 2.

Versuche von Radziewski habe ich wiederholt, indem die in Arbeit genommenen Filtrate von Bact. typhi nach dem von Nicolle angegebenen Verfahren dargestellt wurden. Das entsprechende Serum stammte von immunisierten Kaninchen und besaß das Agglutinationsvermögen 1 : 2000 (während 1 Stunde). Nachdem das Serum im Verhältnis 1 : 10 mit dem Kulturfiltrat vermischt und im Brutschrank bei 37° gestellt worden war, bildete sich nach 20 Stunden ein typischer Niederschlag. Die über dem Niederschlage befindliche klare Flüssigkeit wurde mit einer Pipette abgehoben und auf ihr Agglutinationsvermögen geprüft. Es erwies sich, daß letzteres durch das Entstehen des spezifischen Niederschlages keine nennenswerte Veränderung erlitt. Es blieb wie zuvor: 1 : 2000 in 1 Stunde; in demselben Zeitraume ließ sich bei einer Verdünnung 1 : 20000 noch deutliche Agglutination beobachten. Es will mir nun scheinen, daß die beiden eben angeführten Versuche an und für sich ausreichen, um die Paltaufsche Theorie zu widerlegen.

Dr. Kraus spricht in seinem eben erschienenen Aufsatz (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXII. Orig. No. 1) dem Versuche von Radziewski die Beweiskraft aus dem Grunde ab, weil in demselben die Mengenverhältnisse nicht genug berücksichtigt seien. Diesen Versuchen stellt Kraus neuerdings seine eigenen Beobachtungen gegenüber, welche auszusagen scheinen, daß bei Verwendung eines großen Ueberschusses des Kulturfiltrates eine Verminderung des Agglutinationsvermögens des betreffenden Serums wirklich stattfindet. Da aber unter solchen Umständen auch kein Niederschlag beim Vermischen des Filtrates mit dem Serum gebildet wird, so beweist auch der Versuch von Kraus keine Identität der Ursachen der spezifischen Niederschläge und der Agglutination.

Tabelle I.

| Herkunft des Serums | Agglutinationsmaximum $2^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur | Kraussche Niederschläge nach 20 Stunden bei 37° |
|---|---|---|
| 1) Typh. abdominal. Ein Kranker, 46 Jahre alt. Die 3. Woche fieberlos. Schwerer Fall; Darmblutungen. Parotitis. | + 1:100 | — 1:10 |
| 2) Typh. abdominal. Ein Kranker, 17 Jahre alt. Am 22. Tag der Krankheit Temperatur 38°. Ein leichter Fall. | + 1:500 | — 1:10 |
| 3) Typh. abdominal. Eine Kranke, 45 Jahre alt. Die 3. Woche Temperatur 38—38,4°. Ein leichter Fall. | + 1:30 über 1 Stunde | + 1:10 |
| 4) Typh. abdominal. Eine Kranke, 25 Jahre alt. Am 38. Tag des Rückfalles und den 10. der Apyrexie. | + 1:100 | — 1:10 |
| 5) Typh. abdominal. Eine Kranke, 15 Jahre alt. Am 17. Tag der Krankheit Temperatur 39,4—37,2°. | + 1:100 | — 1:10 |

| Herkunft des Serums | Agglutinationsmaximum $2^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur | Kraussche Niederschläge nach 20 Stunden bei 37° |
|---|---|---|
| 6) Typh. abdominal. Eine Kranke, 55 Jahre alt. Rückfall. Temperatur 38°. | 1:25 im Laufe 1 Stunde | + 1:10 |
| 7) Ein Meerschweinchen, das mit Bac. typh. abdom. immunisiert wurde. | + 1:3000 in 1 Stunde | + 1:10 u. 1:20 — 1:50 |
| 8) Ein Kaninchen, Gewicht 2000 g, welchem vom 20. Okt. bis 23. Jan. 8 abgetötete und $1^1/_2$ lebendige Kulturen von Bac. typh. abdom. subkutan injiziert wurde. | 1:2000 in 1 Stunde | + 1:10 ein typischer Bodensatz |
| 9) Ein Kaninchen, Gewicht 760 g, gleichzeitig 3 Agarkulturen Bac. typh. abdom. subkutan. Blutentnahme 11 Tage nach der Injektion. | > 1:5000 in 1 Stunde | — 1:10 |
| 10) Ein Kaninchen, Gewicht 2410 g, gleichzeitig 3 Agarkulturen Bac. typh. abdom. Blutentnahme 10 Tage nach der Injektion. | > 1:200 in 1 Stunde | + 1:10 ein unbedeutender Bodensatz |

Tabelle II.

Ein Kaninchen, dessen Gewicht 1382 g betrug und dessen Serum vor der ersten Injektion das Agglutinationsvermögen < 1:25 nach 1 Stunde besaß. 11. Mai 3 abgetötete Agarkulturen Bac. typh. abdom. injiziert.

| Datum | Agglutination in 1 Stunde |
|---|---|
| 11. Mai | < 1 : 25 |
| 16. „ | 1 : 800 |
| 19. „ | 1 : 2 000 |
| 22. „ | > 1 : 10 000 und < 1 : 15 000 |
| 26. „ | > 1 : 10 000 „ < 1 : 15 000 |
| 1. Juni | < 1 : 10 000 „ > 1 : 4 000 |
| 6. „ | 1 : 5 000 |
| 13. „ | 1 : 1 000 |
| 19. „ | 1 : 500 |
| 15. Juli | 1 : 20 |

Anmerkung. Um das Agglutinationsvermögen des Serums festzustellen, wurde eine in 0,01 ccm eingeteilte, mit einem Gummiröhrchen und einer Stellschraube versehene Pipette benutzt (Pipette von Gabritschewsky). Mit Hilfe dieser Pipette wurde eine Reihe Verdünnungen des Serums, 1:10, 1:50, 1:100 u. s. w., zubereitet. Dann wurden dieselben mit der entsprechenden Bouillonkultur zu gleichen Teilen auf einem Deckgläschen mit einer Platinöse vermischt. Auf solche Weise bekam man z. B. aus der Lösung des Serums 1:10 die Verdünnung 1:20. Die mikroskopische Untersuchung wurde auf folgende Weise ausgeführt: Das Deckgläschen wurde mit Hilfe von Vaseline auf einem mit einer Vertiefung versehenen Objektträger befestigt und mit dem Abbeschen Beleuchtungsapparat und einem Centraldiaphragma beobachtet. Mit dem dritten System von Leitz ist es dann sehr bequem, das Zusammenhäufen der Mikroben auf dem schwarzen Grunde zu beobachten. Die Reaktion wurde als positiv ausgefallen betrachtet, falls der Durchmesser der Bakterienhäufchen bei der Beobachtung mit drittem System und drittem Okulare von Leitz die Größe von etwa $1^1/_2$—2 mm aufwies. Zur Kontrolle wurde immer noch eine Beobachtung mit Oelimmersion ausgeführt.

Tabelle III.

Eigenschaften normaler Sera von verschiedenen Tierspecies

| No. | Tierspecies. Gewicht | Spezifisches Gewicht | Gefrierpunkts-erniedrigung | Refraktions-index | Alkalinitätsgrad: Phenolphtaleïn als Indikator in ccm KOH resp. $H_2SO_4$-(auf 1,9903 ccm Serum-)Lösung | Alkalinitätsgrad: Sulfoalisarin-saures Natrium als Indikator in Proz. KOH | Agglutination bei Typhi nach 1 Stunde | Niederschläge mit |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| II | Kaninchen 1200 g | 1,0233 | 0,62° | 1,34677 | + 0,5 | — | < 1:10 | keine Niederschläge 1:1, 1:5 u. 1:10 |
| III | Kaninchen 1255 g | 1,0260 | 0,64° | 1,34805 | 0 | — | dasselbe | dasselbe |
| VI | Kaninchen 2240 g | 1,0266 | 0,59° | 1,34847 | 0 | — | „ | „ |
| XIII | Kaninchen 2150 g | 1,0264 | 0,60° | 1,34796 | 0 | 0,58 | „ | „ |
| XVI | Kaninchen 2055 g | 1,0235 | 0,59° | 1,34644 | — 0,9 | 0,53 | „ | „ |
| XVII | Kaninchen 2610 g | 1,0249 | $0,54_5$° | 1,34644 | — 1,4 | 0,55 | „ | „ |
| XVIII | Kaninchen 1735 g | 1,0267 | $0,58_5$° | 1,34872 | — 0,3 | 0,59 | < 1:15 | „ |
| | Hund, 15 kg | 1,0257 | 0,59° | 1,34813 | — 0,4 | 0,43 | 1:8 | — |
| | „ 20 „ | 1,0264 | 0,59° | 1,34864 | — | 0,38 | — | dasselbe |
| | „ 22 „ | 1,0261 | 0,58° | 1,34813 | — | 0,50 | 1:6 | — |
| | Katze, 5 kg | 1,0282 | 0,63° | 1,34915 | — | 0,34 | — | dasselbe |
| | Ferkel, 8 kg | 1,0249 | $0,66_5$° | 1,34652 | — | 0,44 | — | „ |
| | Pferd | 1,0297 | $0,58_5$° | — | — | — | — | — |

(Schluß folgt.)

# Some observations on the protective bodies, and on their relation to bacterial virulence.

[From the Gordon Laboratory, London.]

By **E. W. Ainley Walker,**
M. A., M. D. Oxon., Gordon Lecturer in Experimental Pathology, and Director of the Pathological Laboratory, Guy's Hospital.

The remarkable discoveries of Prof. Ehrlich in the course of his investigation of immunity, and the theories he has put forward of the origin and nature of the anti-bodies, have in recent years attracted very wide attention, and have given fresh stimulus and definite direction to research upon the infective processes.

In their broad general outline the theories of Prof. Ehrlich form the best, and in fact the only tenable hypothesis as to the nature of protective processes which has been suggested: and they are continually receiving fresh support from the results of numerous observers. Many of the details are, however, as yet by no means proved, and may eventually require considerable modification. The following experiments may help to throw some light on certain of the questions here referred to.

## Origin and nature of the complement.

Ehrlich has stated his belief that the complement is a ferment circulating freely in the plasma of the normal animal. The school of Metschnikoff, on the other hand, has brought forward an accumulating mass of evidence tending to establish the existence of a very intimate relationship between this body and the leucocytes, and more especially the recent experiments of Gengou and Bordet (1) appear to show that normal plasma contains no complement at all if the disintegration of the leucocytes has been successfully prevented.

It is moreover known that the complement suffers a rapid disappearance from shed blood or serum. But I am unaware that the details of this disappearance have been accurately investigated. I have approached this question in the following manner. A series of 10 rabbits was immunised by the injection of increasing doses of living typhoid cultures subcutaneously, and the rabbits were subsequently bled for the preparation of serum. Three of them instead of rapidly regaining the temporary loss of weight which followed each injection, became distinctly ill, with loss of appetite, languor, and wasting. These animals were bled and killed while ill in order to determine how the bacteriolytic action of their sera was affected by the severity of their reaction. The treatment of the animals is shown in Table I below.

The sera yielded by the rabbits were examined for bacteriolytic action on broth cultures of the Bacillus typhosus of a definite age, and were compared in this respect with the fresh sera of five normal rabbits. The procedure was as follows: so soon as serum began to separate from the clot a specimen was removed and tested for bacteriolytic action: in from 4 to 6 hours from the time of bleeding a similar specimen was again removed and tested: and again at the end of 24 hours from the time of bleeding. At this latter period (24 hours)

all the serum was removed from the vessel which contained the clot and measured into a series of sterile tubes, one such specimen being tested each succeeding day until the bacteriolytic action had entirely disappeared.

Table I. Immunisation of rabbits.

| Rabbit | Day 1 | Day 3 | Day 5 | Day 10 | Day 14 | Day 19 | Day 21 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I. 1. | $^1/_{20}$ of a 24 hour old agar culture subcutaneously | $^1/_{20}$ of a 24 hour old agar culture subcutaneously | $^1/_{15}$ of a 48 hour old agar culture subcutaneously | Bled | — | — | — |
| I. 2. | do. | do. | do. | $^1/_{10}$ of a 48 hour old agar culture subcutaneously | Bled | — | — |
| I. 3. | do. | do. | do. | do. | do. | — | — |
| I. 4. | do. | do. | do. | — | — | — | Bled |
| I. 5. | do. | do. | do. | $^1/_{10}$ of a 48 hour old agar culture subcutaneously | — | — | do. |
| I. 6. | do. | do. | do. | do. | $^1/_9$ of a 48 hour old agar culture subcutaneously | Bled | — |
| I. 7. | do. | do. | do. | do. | do. | do. | — |
| I. 8. | do. | do. | do. | do. | do. | — | Bled |
| I. 9. | do. | do. | do. | do. | do. | — | do. |
| I. 10. | do. | do. | do. | do. | do. | — | do. |

The method of measuring the serum was by means of counted drops from sterilised pipettes, the same pipette being used throughout all the observations which are recorded in any individual table, so that the observations in each table are strictly comparable. The pipettes were blown for the purpose, and were drawn out in such a way as only to allow the escape of the serum in drops, thus rendering measurement easier and the volume of the drops approximately constant for any given pipette. An estimate of the amounts of serum used in the experiments was obtained by measuring the pipettes. It was found that on an average 300 drops had a volume of about 9 ccm, that is to say, that 10 drops were equal to about 0,3 ccm of the fluid.

The bacteriolytic action of each specimen of serum was tested as follows. A given number of drops were measured into a sterile test-tube and inoculated with one loopful of a 24-hours old broth culture of typhoid. The tube was then incubated for 3 hours at 37° C, at the end of which its contents were plated in 10 ccm of gelatine. The colonies were counted after three days' growth, and in every case a control plate was made with uninoculated serum to test its sterility, and another with one loopful of the typhoid culture inoculated and incubated for 3 hours in 0,5 ccm of sterile broth for comparison with the plates from the serum tubes. The enumeration of the colonies was approximated by means of a Wolfhügel's counting apparatus, and where they were too numerous to estimate I have used the term

Table II. Showing the number of colonies in typhoid plates from rabbits' sera.

| Age of serum | Drops of serum | Typhoid culture | N. 1 | N. 2 | N. 3 | N. 4 | N. 5 | I. 1. | I. 2. | I. 3. | I. 4. | I. 5. | I. 6. | I. 7. | I. 8. | I. 9. | I. 10. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1—2 hours | 5 | 1 loopful | — | — | — | — | — | — | — | — | 450 | 2 | — | — | 3 500 | 5 000 | 16 000 |
| | 10 | " | 1 000 | 800 | — | — | — | 300 | 600 | 300 | 300 | 1 | — | — | 1 600 | 2 500 | 8 000 |
| | 20 | " | 400 | 250 | — | — | — | 100 | 250 | 100 | — | — | — | — | — | — | — |
| | 30 | " | 250 | 70 | — | — | — | — | 150 | 20 | — | — | — | — | — | — | — |
| 4—6 " | 5 | " | — | — | 1 500 | 3 500 | 2 000 | — | — | — | 3 | 3 | — | — | 3 000 | 3 500 | 4 000 |
| | 10 | " | 3 000 | 600 | 700 | 1 500 | 800 | 20 | 600 | 100 | 1 | 1 | — | — | 1 400 | 1 800 | 1 200 |
| | 20 | " | 2 000 | 120 | — | — | — | 10 | 300 | 35 | — | — | — | — | — | — | — |
| | 30 | " | 1 000 | 40 | — | — | — | — | 150 | 10 | — | — | — | — | — | — | — |
| 24 " | 5 | " | — | — | 8 000 | 9 000 | 10 000 | — | — | — | 70 | 800 | — | — | 30 000 | 25 000 | 40 000 |
| | 10 | " | 5 000 | 1 000 | 3 000 | 4 000 | 4 500 | 300 | 2 000 | 1 500 | 20 | 400 | — | — | 10 000 | 6 000 | 6 000 |
| | 20 | " | 2 500 | 200 | — | — | — | 100 | 800 | 500 | — | — | — | — | — | — | — |
| | 30 | " | — | 50 | — | — | — | — | 300 | 200 | — | — | — | — | — | — | — |
| 2 days | 5 | " | — | — | 20 000 | unc. | unc. | — | — | — | 2 000 | 7 000 | 600 | 30 000 | unc. | 50 000 | unc. |
| | 10 | " | 16 000 | 5 000 | 7 000 | 20 000 | 30 000 | 20 000 | 30 000 | 15 000 | 800 | 3 000 | 30 | 25 000 | unc. | 30 000 | 35 000 |
| | 20 | " | 9 000 | 1 500 | — | — | — | 10 000 | 12 000 | 7 000 | — | — | — | — | — | — | — |
| | 30 | " | — | 300 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 3 " | 5 | " | — | — | 50 000 | ∞ | ∞ | — | — | — | 10 000 | 55 000 | 2 500 | unc. | ∞ | unc. | ∞ |
| | 10 | " | unc. | 8 000 | 30 000 | unc. | unc. | unc. | unc. | 50 000 | 2 500 | 40 000 | 100 | unc. | ∞ | unc. | unc. |
| | 20 | " | unc. | 5 000 | — | — | — | unc. | unc. | 30 000 | — | — | — | — | — | — | — |
| 4 " | 5 | " | — | — | unc. | ∞ | ∞ | — | — | — | 50 000 | unc. | 12 000 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| | 10 | " | ∞ | 40 000 | unc. | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ | unc. | 30 000 | unc. | 8 000 | ∞ | ∞ | ∞ | ∞ |
| | 20 | " | ∞ | — | — | — | — | ∞ | ∞ | unc. | — | — | — | — | — | — | — |
| 5 " | 5 | " | — | — | ∞ | — | — | — | — | — | unc. | ∞ | 30 000 | ∞ | — | ∞ | ∞ |
| | 10 | " | — | unc. | ∞ | — | — | ∞ | ∞ | ∞ | unc. | ∞ | 20 000 | ∞ | — | ∞ | ∞ |
| | 20 | " | — | — | — | — | — | ∞ | ∞ | ∞ | — | — | — | — | — | — | — |
| 6 " | 5 | " | — | — | ∞ | — | — | — | — | — | ∞ | — | unc. | ∞ | — | — | — |
| | 10 | " | — | ∞ | ∞ | — | — | — | — | ∞ | ∞ | — | unc. | ∞ | — | — | — |
| | 20 | " | — | — | — | — | — | — | — | ∞ | — | — | — | — | — | — | — |
| 8 " | 5 | " | — | — | — | — | — | — | — | — | ∞ | — | ∞ | — | — | — | — |
| | 10 | " | — | ∞ | — | — | — | — | — | ∞ | ∞ | — | ∞ | — | — | — | — |
| | 20 | " | — | — | — | — | — | — | — | ∞ | — | — | — | — | — | — | — |

unc. = uncountable, ∞ = infinite.

„uncountable", when they were obviously fewer than those in the control plate without serum, and the sign $\infty$ where no such difference was apparent.

The results of this series of observations are given in Table II.

In this table No. I to No. V represent the sera of five normal rabbits, and I. 1 to I. 10 are the sera of the rabbits which had been inoculated with the Bacillus typhosus as shown in table I.

The table shows the gradual disappearance of the bacteriolytic action of the sera, and exhibits quantitatively the time relations of this process. It also shows that though there is some difference in the rapidity of the loss in different sera, no distinction is to be observed in this respect between the sera of normal and of immunised animals.

The sera of the immunised animals exhibited a markedly greater bacteriolytic power than those of normal animals, except in the case of the immune sera I. 8, I. 9 and I. 10. These latter were the sera of the three rabbits which were bled while suffering from a considerable constitutional disturbance as the result of the inoculations: and in them the bacteriolytic power is definitely diminished below that of the normal sera. But whether this was due to a diminution of the complement or of the immunebody, the experiments devised do not determine. I. 6 and I. 7 were the sera of two rabbits of similar age and weight which had received identical injections and which were bled at the same time for the purpose of comparison. The serum I. 6 was not separated from the clot after 24 hours, as were the other sera, and it was kept continuously in an ice-chest while all the other sera had been kept at the room temperature (about 14° C). It shows a marked retardation of the disappearance of bacteriolytic action, which from a consideration of the observations next to be recorded I attribute to the fact that it was left in contact with the clot, rather than to its preservation in the ice-chest.

On examining the table as a whole, the remarkable fact is to be noted that in many cases the serum taken from the clot from 4 to 6 hours after the time of bleeding had more bacteriolytic action than that taken for the earlier observation (1 to 2 hours old). That is to say, that the bacteriolytic power had undergone an increase in the serum during these early hours. In order to verify this observation I next examined a number of normal sera such as could readily be obtained in quantity. These were sheep's sera, a number of specimens of which were tested hourly for the first six hours from the time of bleeding. The method followed was the same as that already described, but the typhoid cultures used were somewhat younger. On some occasions the sera were tested also against broth cultures of a Streptococcus.

The serum was left in contact with the clot throughout, a specimen being removed each hour for the examination. In some cases also some of the serum was removed from the clot after one hour or several hours and placed in sterile test-tubes for comparison at a later period with a specimen freshly removed from the vessel which contained the clot serum. And on two occasions defibrinated blood was prepared instead of serum and submitted to a similar examination. One similar series of observations was made with serum and defibrinated blood obtained from the same rabbit. The results obtained are shown in Tables III, IV and V.

Table III. Showing the number of colonies in typhoid plates from serum and defibrinated blood of sheep.

| Age of the serum or defibrinated blood | Quantity of serum or defibrinated blood | Typhoid culture about 8 hours old | Colonies in the plates from serum of sheep 1 | Colonies in the plates from serum of sheep 2 | Colonies in the plates from defibrinated blood of sheep 3 | Colonies in the plates from defibrinated blood of sheep 4 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 hour | 20 drops | 1 loopful | 65 | 35 | 8 | 10 |
| 2 hours | " | " | 23 | 20 | 11 | 10 |
| 3 " | " | " | 19 | 12 | 9 | 13 |
| 4 " | " | " | 16 | 23 | 15 | 17 |
| 5 " | " | " | 13 | 28 | 22 | 21 |
| 6 " | " | " | 17 | 33 | 31 | 33 |
| 18 " | " | " | — | 62 | — | — |
| 20 " | " | " | 51 | — | — | — |
| 4 hours: taken from the clot at 1 hour | " | " | — | 34 | — | — |
| 5 hours: taken from the clot at 1 hour | " | " | — | 42 | — | — |
| 5 hours: taken from the clot at 2 hours | " | " | 35 | — | — | — |
| 5 hours: taken from the clot at 3 hours | " | " | 26 | — | — | — |
| 18 hours: taken from the clot at 5 hours | " | " | — | 495 | — | — |

The controls of serum of and defibrinated blood alone were sterile.

Table IV. Showing the number of colonies in typhoid plates from the serum and defibrinated blood of a rabbit.

| Age of the serum or defibrinated blood | Quantity of serum or defibrinated blood | Typhoid culture about 16 hours old | Colonies in the plates from the rabbit's serum | Colonies in the plates from the rabbit's defibrinated blood |
|---|---|---|---|---|
| 1 hour | 20 drops | 1 loopful | 600 | 150 |
| 2 hours | " | " | 480 | 170 |
| 3 " | " | " | 350 | 210 |
| 4 " | " | " | 240 | 280 |
| 5 " | " | " | 270 | 340 |
| 6 " | " | " | 330 | 430 |
| 6 hours: taken from the clot at 1 hour | " | " | 810 | — |

These tables show that while the bacteriolytic action of defibrinated blood is originally greater than that ever attained by serum (compare colonies from defibrinated blood one hour old with colonies from serum 4 hours old in table IV etc.), yet it diminishes progressively with each succeeding hour, as was first shown by von Fodor (2). But the bacteriolytic power of serum which has been left in contact with the clot progressively increases during the earlier hours after the blood is shed, and only subsequently begins to undergo a gradual diminution. And that this

Table V. Showing the number of colonies in Streptococcus plates from the serum of sheep 1.

| Age of the serum | Quantity of serum | Streptococcus culture about 8 hours old | Colonies in the plates from the sheep's serum |
|---|---|---|---|
| 1 hour | 20 drops | 1 loopful | 100 000 |
| 2 hours | " | " | 44 100 |
| 3 " | " | " | 37 800 |
| 4 " | " | " | 33 500 |
| 5 " | " | " | 31 900 |
| 6 " | " | " | 36 700 |

The controls from serum and defibrinated blood alone in tables IV and V were sterile.

increase is determined by its contact with the clot is proved by a comparison of the observations on serum taken from the clot-containing vessels at a given hour, but only tested later after some hours' standing with those on samples of the same serum freshly removed from the clot and submitted to examination at the same period after bleeding as the former. Thus of the two samples of serum in Table IV which were examined for bacteriolytic action at the 6th hour from the time the blood was taken, one which was freshly removed from the clot for this examination showed only 330 colonies on plating, while the other which had been removed after 1 hour — at a time when the bacteriolytic power was such that some 600 colonies grew in the plate after the usual procedure — and had been left to stand in a test-tube for the next five hours allowed the growth of 810 colonies after similar treatment.

The results of these experiments lead to the conclusion that while in a defibrinated blood the whole available bacteriolysins are present from the first and undergo a steady diminution from the outset, those of the serum, while progressively deteriorating also, are during the earlier hours continually receiving fresh additions from the clot. And this conclusion is confirmed by animal experiments to be recorded later, in which an extract of fresh blood-clot was found capable of making good a deficiency of complement in the animals concerned. The evidence is therefore strongly favourable to the view that the bacteriolytic "ferment" is a leucocytic product yielded to the serum by disintegration of the leucocytes. It cannot be explained upon the view of Ehrlich that this ferment is a substance normally present in the plasma of the living animal.

I may here also refer briefly to results which have been recently obtained by Dr. Beaton and myself in a series of observations which we hope to publish shortly. We have found not only that the bacteriolytic power of blood varies from day to day with the variations in the number of leucocytes which it contains, rising considerably when the number of leucocytes increases and falling with their diminution, but also that the amount of immune-body present in the blood follows from day to day the curve which is presented by the daily leucocytic count. This latter fact has been already proved by Bulloch (3) in the case of haemolysins, where the mononuclear leucocytes were shown by him to be the probable source of immune-body: in our experiments with the Vibrio Metschnikovii and the B. typhosus the polymorphonuclear leucocytes appear to be the variety concerned.

Deficiency of complement. Specialism of complement.

An animal treated with a specific immune-serum may die of an acute infection with the bacterium concerned, even though so great an amount of immune-serum has been given that the blood and body-fluids of the dead animal possess protective power for other animals against the same infection. This has been shown by Ehrlich to be due to a deficiency of complement in the animal concerned.

But before in any given experiment a fatal termination can be attributed to a deficiency of complement, it is necessary to determine that a sufficiency of immune-serum has been given. The fact that if the serum-equivalent[1]) of one M. L. D. (minimal lethal dose) of a given bacterium be determined and a animal be now injected with say three times this quantity of immune-serum and 3 M. L. D. of the bacterium the animal invariably dies, affords no evidence at all of a deficient complement. This appears at once from the following considerations: let d represent the M. L. D. in question, and let s. be the serum-equivalent of d, and suppose e to be the greatest non-letal dose of the bacterium for 100 g of guinea-pig. A normal guinea-pig has therefore natural immunity sufficient to protect it against the dose e of the bacterium. The protective action of the serum s can therefore only be regarded as sufficient to protect against a dose (d—e) of the bacterium. If then a dose of 2d (2 M. L. D.) be given the dose of the bacterium against which serum protection is required is evidently (2d—e), and hence the quantity of serum which must be given to supply sufficient of the immune-body is $\frac{2d-e}{d-e}$ x s, and not 2s. Similarly if n M. L. D.'s be given the quantity of serum to supply sufficient immune-body for protection is $\frac{nd-e}{d-e}$ x s. If less than this amount be given the animal will die from deficiency of immune-body irrespective of the amount of complement which it possesses. And I have already published (4) experiments that show that in guinea-pigs treated with anti-typhoid serum against the infection of a variety of the B. typhosus deficiency of complement did not appear until a limit of 5 times the M. L. D. was reached.

I then proceeded to examine the phaenomenon of deficiency of complement in such cases by injecting guinea-pigs with 10 M. L. D. of living typhoid culture and the amount of immune-serum necessary to supply sufficient immune-body for this volume of bacteria as calculated from the formula just given. In this particular case d was equal to 0,075 of a 48-hour old culture on a given agar surface, and e was equal to 0,05 of a similar culture: the amount of immune-serum required for 10 M. L. D. was therefore $\frac{10 \times 0{,}075 - 0{,}05}{0{,}075 - 0{,}05} \times s = 28\ s$[2]). Guinea-pigs injected with 10 M. L. D.'s of the typhoid cultures and 28 serum-equivalents of immune-serum were found to die within about 18 hours, and this result was due to a deficiency of complement and not to a deficiency in the amount of immune-serum given. Three series of ex-

1) By the term serum-equivalent is meant the amount of immune-serum necessary to protect 100 g of guinea-pig against a single M. L. D.

2) S was found to be equal to 0,025 ccm of the immune-serum.

periments were then performed in which each animal received 10 M. L. D.'s of typhoid culture and 28 serum-equivalents of the immune-serum together with either a) fresh normal serum, or b) old normal serum, or c) extract of fresh blood clot, in an endeavour to supply the deficiency of complement. The results are shown in Tables VI, VII and VIII.

Table VI. Showing that deficiency of complement may be supplied by the fresh serum of other animals.

| Guinea-pig | Quantity of typhoid culture | Quantity of inactive horse's immune-serum | Quantity of fresh normal serum per 100 g of guinea-pig | Result |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 M. L. D.'s | 28[1]) Serum-equivalents | — | death within 16 hours |
| 2 | 10 „ | do. | 1 ccm fresh rabbit's serum | death within 16 hours |
| 3 | 10 „ | do. | 2 ccm fresh rabbit's serum | recovered |
| 4 | 10 „ | do. | 1 ccm fresh ox serum | death in 20—24 hours |
| 5 | 10 „ | do. | 2 ccm fresh ox serum | recovered |
| 6 | 10 „ | do. | 1 ccm fresh pig's serum | death in 26—28 hours |
| 7 | 10 „ | do. | 2 ccm fresh pig's serum | recovered |

Table VII. Showing that deficiency of complement is not supplied by old stored serum.

| Guinea-pig | Quantity of typhoid culture | Quantity of inactive horse's immune-serum | Quantity of old normal serum per 100 g of guinea-pig | Result |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 M. L. D.'s | 28 Serum-equivalents | — | death within 18 hours |
| 2 | 10 „ | do. | 2 ccm old ox rabbit's serum | do. |
| 3 | 10 „ | do. | 2 ccm old ox rabbit's serum | do. |
| 4 | 10 „ | do. | 2 ccm old ox serum | do. |
| 5 | 10 „ | do. | 3 ccm old ox serum | do. |
| 6 | 10 „ | do. | 2 ccm old pig's serum | do. |
| 7 | 10 „ | do. | 3 ccm old pig's serum | do. |

Table VIII. Showing that deficiency of complement may be supplied by an extract of the fresh blood-clot of other animals.

| Guinea-pig | Quantity of typhoid culture | Quantity of inactive horse's immune-serum | Quantity of extract of fresh clot[2]) per 100 g of guinea-pig | Result |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 M. L. D.'s | 28 Serum-equivalents | — | death within 18 hours |
| 2 | 10 „ | do. | 3 ccm extract of fresh ox clot | recovered |
| 3 | 10 „ | do. | 3 ccm extract of fresh pig's clot | do. |

1) The theoretical amount of immune-serum necessary from the formula $\frac{nd-e}{d-e}$

2) Extracts of fresh clots were made as follows: The clot from a measured volume of blood was broken up and centrifugalised and the fluid decanted off. A quantity of

Table IX. Showing the effect on the bacteriolytic action of fresh normal rabbit's blood of the addition of increasing quantities of inactive rabbit's immune-serum (typhoid).

| Fresh normal rabbit's serum | Inactive rabbit's immune-serum | Quantity of typhoid culture | Colonies in plates from the mixed sera |
|---|---|---|---|
| 10 drops | 2 drops | 1 loopful | 400 |
| 10 „ | 5 „ | 1 „ | 1 800 |
| 10 „ | 10 „ | 1 „ | 45 000 |
| 10 „ | 20 „ | 1 „ | unc. |
| 10 „ | 40 „ | 1 „ | ∞ |
| 10 „ | 80 „ | 1 „ | ∞ |
| 10 „ | 0 | 1 „ | 830 |
| 5 „ | 0 | 1 „ | 1 960 |

unc. = uncountable. ∞ = infinite. Control plate sterile.

Table X. Showing the effect on the bacteriolytic action of fresh normal rabbit's blood of the addition of increasing quantities of inactive horse's immune-serum (typhoid).

| Fresh normal rabbit's serum | Inactive horse's immune-serum | Quantity of typhoid culture | Colonies in plates from the mixed sera |
|---|---|---|---|
| 10 drops | 0 | 1 loopful | 1 080 |
| 10 „ | 1 drop | 1 „ | 420 |
| 10 „ | 5 drops | 1 „ | 1 320 |
| 10 „ | 25 „ | 1 „ | 50 000 |
| 10 „ | 50 „ | 1 „ | unc. |
| 10 „ | 100 „ | 1 „ | ∞ |

Table XI. Showing the effect on the bacteriolytic action of the fresh (4 hours old) Serum of sheep 1 of the addition of increasing quantities of inactive rabbit's and inactive horse's immune-serum respectively (typhoid).

| Fresh normal serum of sheep 1 | Inactive rabbit's immune-serum | Quantity of typhoid culture (about 8 hours old) | Colonies in plates from the mixed sera | Fresh normal serum of sheep 1 | Inactive horse's immune-serum | Quantity of typhoid culture (about 8 hours old) | Colonies in plates from the mixed sera |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20 drops | 0 | 1 loopful | 15 | 20 drops | 0 | 1 loopful | 17 |
| 0 | 20 drops | 1 „ | ∞ | 0 | 20 drops | 1 „ | ∞ |
| 20 drops | 1 drop | 1 „ | 12 | 20 drops | 1 drop | 1 „ | 0 |
| 20 „ | 5 drops | 1 „ | 2 | 20 „ | 5 drops | 1 „ | 10 |
| 20 „ | 10 „ | 1 „ | 20 | 20 „ | 10 „ | 1 „ | 300 |
| 20 „ | 20 „ | 1 „ | 420 | 20 „ | 20 „ | 1 „ | 3 600 |
| 20 „ | 40 „ | 1 „ | 5 400 | 20 „ | 40 „ | 1 „ | 27 000 |
| 20 „ | 60 „ | 1 „ | 32 400 | 20 „ | 60 „ | 1 „ | 70 000 |
| 20 „ | 80 „ | 1 „ | 54 000 | 20 „ | 80 „ | 1 „ | unc. |
| 20 „ | 100 „ | 1 „ | unc. | 20 „ | 100 „ | 1 „ | ∞ |
| 20 „ | 140 „ | 1 „ | ∞ | 20 „ | 150 „ | 2 „ | ∞ |

unc. = uncountable. ∞ = infinite. Control plate sterile.

---

old inactive normal serum equal to the original volume of the blood from which the clot was obtained was then added to the clot, and thoroughly mixed with it in a mortar. The mixture was placed in the incubator for an hour or two and the fluid separated by the centrifuge and used for the experiments above. The extract of ox clot was made with old rabbit's serum, and that of the pig's clot with old serum of the pig.

The results of these experiments confirm the results obtained above in the observations on the bacteriolytic power of blood and serum by showing that while fresh normal serum can supply the missing complement this body rapidly deteriorates and disappears from the stored fluids and also by showing that the necessary complement can similarly be obtained from fresh blood-clot after the serum has been separated from it. And since in these experiments the deficiency of complement could be made good for guinea-pigs by means of the fresh serum either of the rabbit, ox, or pig, I conclude that though this body may possess a specialism to the species, as believed by Ehrlich, yet such specialism is by no means such as to prevent a suitable supply of complement being obtainable from the serum of animals of widely different species from the one concerned, and is probably no greater in degree than the specialism which I have found existing in the case of immune-body (5). It is of interest also that such complements were satisfactory to the protective-immune serum used, which was derived from horses.

During last year Neisser and Wechsberg (6) published an important series of experiments showing that a deficiency of complement may be occasioned in another manner, namely by giving an excess of immune-serum. They found that the excess of immune-body possessed at least as great if not a greater affinity for the complement than did the immune-body which was fixed by the bacteria in their experiments upon bacteriolysis, so that if great excess of immune-serum were employed bacteriolysis entirely failed owing to all the complement being seized by the free immune-body present in the fluid tested. And they have pointed out how very strongly these results support Professor Ehrlich's theory of the process of bacteriolysis against such theories as those put forward by Bordet and others.

I have obtained the same results in numerous observations on the bacteriolysis of Streptococci and of the Bacillus typhosus by the fresh normal sera of the rabbit and the sheep to which were added varying quantities of inactive antistreptococcus serum of the horse, and antityphoid serum of the horse or of the rabbit respectively in different series of test-tube experiments. The results, which are entirely confirmatory of those obtained by Neisser and Wechsberg are given in Tables IX to XV.

Table XII. Showing the results of similar observations to those in table XI made on fresh serum (4 hours old) of sheep 2 (typhoid).

| Fresh normal serum of sheep 2 | Inactive rabbits' immune-serum | Quantity of typhoid culture (about 8 hours old) | Colonies in plates from the mixed sera | Fresh normal serum of sheep 2 | Inactive horse's immune-serum | Qunatity of typhoid culture (about 8 hours old) | Colonies in plates from the mixed sera |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20 drops | 0 | 1 loopful | 30 | 20 drops | 0 | 1 loopful | 28 |
| 0 | 20 drops | 1 „ | ∞ | 0 | 20 drops | 1 „ | ∞ |
| 20 drops | 1 drop | 1 „ | 5 | 20 drops | 1 drop | 1 „ | 6 |
| 20 „ | 5 drops | 1 „ | 2 | 20 „ | 5 drops | 1 „ | 50 |
| 20 „ | 10 „ | 1 „ | 17 | 20 „ | 10 „ | 1 „ | 175 |
| 20 „ | 20 „ | 1 „ | 540 | 20 „ | 20 „ | 1 „ | 6 000 |
| 20 „ | 40 „ | 1 „ | 6 000 | 20 „ | 40 „ | 1 „ | 36 000 |
| 20 „ | 60 „ | 1 „ | 42 000 | 20 „ | 60 „ | 1 „ | unc. |
| 20 „ | 80 „ | 1 „ | unc. | 20 „ | 80 „ | 1 „ | ∞ |
| 20 „ | 100 „ | 1 „ | ∞ | 20 „ | 100 „ | 1 „ | ∞ |

unc. = uncountable; ∞ = infinite. Control-plate sterile.

Table XIII. Showing the effect on the bacteriolytic action upon Streptococci of the fresh normal serum of rabbit of the addition of increasing quantities of the inactive horses antistreptococcus immune-serum sheep 1 (Streptococci).

| Fresh normal rabbits' serum 4 hours old | Inactive horse's immune-serum sheep 1 | Quantity of Streptococcus culture (about 8 hours old) | Colonies in plates from the mixed sera |
|---|---|---|---|
| 15 drops | 0 | 1 loopful | 32 400 |
| 15 " | 1 drop | 1 " | 15 600 |
| 15 " | 5 drops | 1 " | 6 500 |
| 15 " | 25 " | 1 " | 13 200 |
| 15 " | 50 " | 1 " | 54 000 |
| 15 " | 100 " | 1 " | ∞ |

∞ = infinite. Control-plate sterile.

Table XIV. Showing the results of similar observations to those in table XIII made with fresh serum (4 hours old) of sheep 1.

| Fresh normal serum of sheep 1 | Inactive horse's immune-serum sheep 1 | Quantity of Streptococcus culture (about 8 hours old) | Colonies in plates from the mixed sera |
|---|---|---|---|
| 20 drops | 0 | 1 loopful | 43 200 |
| 0 | 20 drops | 1 " | ∞ |
| 20 drops | 1 drop | 1 " | 13 500 |
| 20 " | 5 drops | 1 " | 8 100 |
| 20 " | 10 " | 1 " | 16 300 |
| 20 " | 20 " | 1 " | 24 300 |
| 20 " | 40 " | 1 " | 35 100 |
| 20 " | 60 " | 1 " | 81 000 |
| 20 " | 80 " | 1 " | unc. |
| 20 " | 100 " | 1 " | ∞ |
| 20 " | 150 " | 1 " | ∞ |
| 20 " | 200 " | 1 " | ∞ |

unc. = uncountable; ∞ = infinite. Control-plate sterile.

Table XV. Similar to table XIV but with the fresh (4 hours old) serum of sheep 2. The inactive antistreptococcus horse's serum. Sheep 2.

| Fresh normal serum of sheep 2 | Inactive horse's immune-serum sheep 2 | Quantity of Streptococcus culture (about 8 hours old) | Colonies in plates from the mixed sera |
|---|---|---|---|
| 20 drops | 0 | 1 loopful | unc. |
| 0 | 20 drops | 1 " | ∞ |
| 20 drops | 1 drop | 1 " | unc. |
| 20 " | 5 drops | 1 " | 32 400 |
| 20 " | 10 " | 1 " | 14 000 |
| 20 " | 20 " | 1 " | 34 000 |
| 20 " | 40 " | 1 " | 100 000 |
| 20 " | 60 " | 1 " | unc. |
| 20 " | 80 " | 1 " | ∞ |
| 20 " | 100 " | 1 " | ∞ |
| 20 " | 150 " | 1 " | ∞ |
| 20 " | 200 " | 1 " | ∞ |

unc. = uncountable; ∞ = infinite. Control-plate sterile.

## Relation of bacterial virulence to protective substances.

I have already published a series of experiments which go to show that a bacterium may be immunised against its immune-serum by allow-

ing it to grow for a sufficient length of time in a succession of subcultures in the inactive immune-serum. During the process the bacterium becomes more virulent for animals, which are not only killed by smaller doses of the immunised bacterium than of the original micro-organism, but are also less protected by equivalent amounts of immune-serum against the former than against the latter (5).

I have now examined the question of bacterial virulence from another aspect by growing a particular variety of B. typhosus through fresh (bacteriolytic) normal rabbits' blood for between twenty and thirty "passages" and noting the effect upon its virulence.

During the experiments the original B. typhosus — and old laboratory culture — was maintained as far as possible in statu quo ante by daily re-inoculation on sloped agar. Passage through blood was carried out as follows: a small quantity of blood was taken aseptically from a rabbit's ear and diluted 1 in 10 with sterile broth. The mixture was inoculated with a loopful of a broth emulsion of the typhoid culture and incubated for 3 hours at 37° C. A sample of the fluid was then plated upon agar. This constituted the first passage of the micro-organism through fresh blood. The plate was examined upon the following day and a subculture from a colony made on agar. From a broth emulsion of this subculture a second sample of fresh dilute rabbits' blood was inoculated as a second passage, and the same procedure as described above was repeated for this and the succeeding passages through blood.

Twenty-six such passages through blood were made, the average being two passages per week during some fifteen weeks. On two occasions the agar plates from the blood passages were found to be contaminated and were rejected, a return being made to the subculture from the last preceding passage. The original culture is designated typhoid 1, and the cultures after passage through fresh blood typhoid 2, 3, 4, ...... 27 respectively.

On several occasions in the course of the experiments a number of these cultures were examined as regards their relative susceptibility to the bacteriolytic action of fresh rabbits' blood, equal quantities (1 loopful) of 18 hour old broth subcultures of the several cultures being inoculated into equal volumes of fresh dilute rabbits' blood and incubated for 3 hours, after which 2 loopfuls from each tube were plated out on gelatine and the resulting colonies counted on the 3rd day after. These observations showed that the resistance of the organism to the bacteriolytic action of fresh blood was steadily increasing, as may be seen in table XVI, which is here recorded as an illustration of the effect observed.

Table XVI. Showing the relative bacteriolytic action of dilute fresh normal blood on the original typhoid and on the cultures after several passages through blood.

| Name of culture examined | Quantity of culture (18 hours old) | Quantity of dilute fresh normal blood | Colonies in the plates |
|---|---|---|---|
| Typhoid 1 | 1 loopful | 0,5 ccm | 1 800 |
| „ 8 (after 7 passages) | 1 „ | 0,5 „ | 6 480 |
| „ 14 ( „ 13 „ ) | 1 „ | 0,5 „ | 10 800 |
| „ 19 ( „ 18 „ ) | 1 „ | 0,5 „ | 14 120 |
| „ 23 ( „ 22 „ ) | 1 „ | 0,5 „ | 19 440 |

The total change in this respect which was produced by the passages is shown in the following final observation, in which the whole of the inoculated fluid was added to a tube of melted gelatine and plated.

Table XVII. Showing the relative bacteriolytic action of fresh rabbits serum (6 hours old) on the original typhoid and on the same organism after 26 passages through fresh blood.

| Name of culture examined | Quantity of 48 hours old broth culture | Quantity of fresh rabbits' serum | Colonies in the plates |
|---|---|---|---|
| Typhoid 1 | 2 loopfuls | 1 ccm | 4 |
| „ 27 | 2 „ | 1 „ | 66 |

Here only 4 bacilli of typhoid 1 survived, while 66 of typhoid 27 were able to resist the bacteriolytic action of the rabbits' serum. Evidently then the organism had become much more resistant to bacteriolysis by rabbits' blood and serum during the course of the experiments.

The virulence of typhoid 1 and typhoid 27 respectively was next determined on guinea-pigs and rabbits, using emulsions made from agar cultures of the organism of 48 hours' growth. The agar cultures used were made in tubes carefully chosen of the same size, containing equal amounts of agar-medium and sloped to the same height in order to obtain a surface of approximately constant area: and they were so inoculated that the whole surface of the agar was grown over. Accordingly it will be seen that suitable precautions were taken to make the cultures strictly comparable. But since the rabbit experiments were carried out in the Laboratory of my friend Dr. Ritchie at Oxford, and with different tubes and a different batch of agar from those employed in the rest of the experiments, the doses used for rabbits are not strictly comparable with those employed for guinea-pigs in London. The doses used are given in terms of fractions of an agar culture per 100 g of weight of the animal inoculated, and were injected intraperitoneally through a hypodermic needle.

The experiments are recorded in tables XVIII and XIX below.

Table XVIII. Approximate determination of M. L. D. of typhoid 1 and typhoid 27 for guinea-pigs.

| Typhoid 1 | | | | Typhoid 27 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Guinea-pig | Weight of guinea-pig in grammes | Amount of culture per 100 grammes of weight | Result | Guinea-pig | Weight of guinea-pig in grammes | Amount of culture per 100 grammes of weight | Result |
| 1 | 175 | $^1/_6$ | death in 40 hours | 1 | 150 | $^1/_7$ | death in 18 hours |
| 2 | 145 | $^1/_7$ | lived | 2 | 190 | $^1/_8$ | do. |
| 3 | 190 | $^1/_8$ | „ | 3 | 200 | $^1/_{10}$ | death in 24 hours |
| 4 | 250 | $^1/_5$ | ill after 24 h., recovered | 4 | 235 | $^1/_{12}$ | ill after 24 h., recovered |
| 5 | 200 | $^1/_5$ | death in 30 hours | 5 | 230 | $^1/_{10}$ | very ill after 24 h., death in 30h. |
| 6 | 250 | $^1/_5$ | ill after 24 h., death after 1 week | | | | |
| M. L. D. not less than $^1/_5$th of a culture | | | | M. L. D. about $^1/_{10}$th of a culture | | | |

Table XIX. Approximate determination of M. L. D. of typhoid 1 and typhoid 27 for rabbits.

| Typhoid 1 | | | | Typhoid 27 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Rabbit | Weight of rabbit in grammes | Amount of culture per 100 grammes of weight | Result | Rabbit | Weight of rabbit in grammes | Amount of culture per 100 grammes of weight | Result |
| 1 | 1388 | $^1/_5$ + | death within 24 hours | 1 | 1083 | $^1/_5$ + | death within 24 hours |
| 2 | 1203 | $^1/_{12}$ | lived | 2 | 1027 | $^1/_{10}$ | do. |
| 3 | 1162 | $^1/_6$ | death within 24 hours | 3 | 1290 | $^1/_{18}$ | do. |
| 4 | 1350 | $^1/_6$ | do. | 4 | 915 | $^1/_{18}$ | lived |
| 5 | 1433 | $^1/_7$ | lived | 5 | 1378 | $^1/_{14}$ | death within 24 hours |
| 6 | 1540 | $^1/_8$ + | ill after 24 h., recovered | 6 | 1615 | $^1/_{16}$ | very ill after 24 h., recovered |
| 7 | 1410 | $^1/_7$ | lived | 7 | 1410 | $^1/_{14}$ | death within 24 hours |
| | | | | 8 | 1570 | $^1/_{16}$ | do. |
| M. L. D. about $^1/_6$th of a culture | | | | M. L. D. about $^1/_{15}$th of a culture | | | |

From the tables it is seen that the virulence of the bacterium for guinea-pigs was at least doubled by the 26 passages through fresh rabbits! blood: and that for rabbits had been more than doubled (multiplied aboud $2^1/_2$ times) by the same procedure. And seeing that the total length of time during which the bacterium in question was submitted to the action of the blood was only about 3 days (26 times (3 hours) the increase of its virulence may be regarded as considerable.

At the end of the experiments both Typhoid 1 and typhoid 27 were examined microscopically and in culture and exhibited the characters which we regarded as distinctive of the Bacillus typhosus, — including Durham's reaction: and it was shown by plate cultivation of dilute emulsions that the results were not attributable to an increased rate of growth in typhoid 27, since plates from equal volumes of emulsions of typhoid 1 and typhoid 27 showed approximately the same number of colonies on counting. Accordingly the alteration in the bacterium brought about by passage was a true increase of its virulence.

## Conclusions.

1. The amount of complement present in a given serum varies continously from hour to hour after the blood is shed, and undergoes a steady increase during the first few hours if the serum be left in contact with the clot, but subsequently shows progressive diminution.

2. Observations on the bacteriolytic action of a serum are only comparable if performed with the same serum and at the same time.

3. Complement may be obtained from fresh blood-clot as well as from fresh serum.

4. Complement is formed by leucocytes and becomes liberated into the plasma (or the serum) by their disintegration. The immune-body is probably also formed by leucocytes.

5. The complement is not so special to the species but that a

deficiency of complement may be made good by means of complement from animals of other species.

6. Deficiency of complement may be artificially produced by giving an excess of immune-serum.

7. The virulence of a bacterium may be increased by passage through bacteriolytic fluids in vitro, and this increase in virulence is much more rapid than that which can be brought about by cultivation in inactive immune-serum.

8. Since the natural bactericidal power of normal serum is removed by the addition of excess of immune-body it follows that it is of the same nature, and dependent on the same substances as the acquired variety.

A part of the expenses of the experiments recorded was defrayed from grants received from the Scientific Grants Committee of the Royal Society, and from the British Medical Association.

---

**References.**

1) Bordet et Gengou, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XV. 1901. p. 129 and Gengou ibid. p. 232.
2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. 1890. p. 753.
3) Trans. Path. Soc. London. Vol. LII. 1902. p. 242.
4) Journ. of Hyg. Vol. II. 1902. p. 85.
5) Journ. of Path. and Bact. Vol. VIII. 1902. p. 34.
6) Münch. med. Wochenschr. Bd. XLVIII. 1901. p. 697.

---



# Die Züchtung von Gonokokken auf „Thalmann-Agar“.

Von

**S. H. Brongersma,** prakt. Arzt in Bloemendaal

und

**Dr. Th. H. Van de Velde,** Frauenarzt in Haarlem.

Mit 2 Figuren.

Auf Anregung von Herrn Havelaar, Direktor der Haarlemer Wasserleitung, der uns in dankenswerter Weise sein Laboratorium zur Verfügung stellte und uns immer mit seinen geschätzten Ratschlägen zur Seite stand, haben Brongersma und ich die Züchtung von Gonokokken auf nach Thalmanns Vorschrift bereitetem Fleischwasseragar versucht und dabei die Angaben des Autors in der Hauptsache bestätigt gefunden.

Wie bekannt, hat Thalmann in diesem Centralblatt (Bd. XXVII. 1900. I. Abt., No. 24 und Bd. XXXI. Originale. 1902. No. 14) die Mitteilung gemacht, daß die Gonokokken sich auf Fleischwasseragar und Bouillon leicht züchten lassen, wenn der Nährboden nur eine bestimmte, saure Reaktion zeigt.

„Der Gonococcus wächst (also) weder auf lackmussaurem, noch lackmusneutralem Substrat. Wird der Nährboden leicht alkalisch (gegen Lackmus), so beginnt das Wachstum, steigt bei weiterem Zusatz von Lauge allmählich zum Optimum, und fällt dann wieder bis 0, ehe der

Nährboden gegen Phenolphthaleïn neutral wird. Bei Phenolphthaleïnneutralität fehlt also das Wachstum ebenso wie bei Lackmusneutralität, und darin liegt die Erklärung, daß früher dem Gonococcus das Vermögen, auf Agar und in Bouillon sich zu vermehren, im allgemeinen abgesprochen wurde. Zur Bestimmung des Wachstumsoptimum, also überhaupt zur Herstellung des Nährbodens für den Gonococcus, läßt sich nur das Phenolphthaleïn als Indikator benutzen, nicht aber Lackmus, da der günstigste Nährboden gegen Lackmus ziemlich stark alkalisch, gegen Phenolphthaleïn aber noch sauer reagiert, und zwar habe ich das Optimum an der Stelle gefunden, wo etwa $^2/_3$—$^3/_4$ der zur Phenolphthaleïnneutralisierung notwendigen Natronlösung zugesetzt ist."

So weit ich weiß, ist es bis jetzt nur Ströhmberg aus Dorpat, der das Resultat seiner Züchtungsversuche auf Thalmann-Agar veröffentlicht hat. Da diese Publikation aber im russischen Journal für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. II. No. 9. erschienen ist, und mir, wie Vielen, unzugänglich ist, weiß ich davon nur, was Thalmann mitteilt, nämlich daß Ströhmberg diese Züchtungsweise als eine ausgezeichnete, leicht ausführbare betrachtet, sehr viele Prostituierte damit untersucht hat, und bei fast allen, auch wenn klinische Symptome gänzlich fehlten, Gonokokken nachweisen konnte.

Da also diese Arbeit, wie bedeutend sie auch sei, einzig, und darzu noch wenig zugänglich, in der Litteratur dasteht und die Mitteilungen Thalmanns noch nicht die Beachtung zu finden scheinen [1]), die sie in Anbetracht ihres großen praktischen Wertes, speziell für die Diagnose der Gonorrhöe, verdienen, erscheint mir die Veröffentlichung unserer, Thalmanns Angaben befestigenden Beobachtungen angezeigt.

Es kam sowohl vom Mann wie vom Weibe stammender, eitriger oder auch mehr schleimiger Ausfluß aus der Harnröhrenöffnung, oder aus verschiedenen Teilen der weiblichen Genitalien entnommen, zur Untersuchung. Die gonorrhoische Infektion war bald von recentem Ursprung, bald aber schon längere Zeit vorhergegangen.

Die ersten Impfungen wurden genau nach Thalmanns Vorschrift. durch Ausstreichen von Trippereiter mittels einer dünnen, leicht federnden Platinöse auf Thalmann-Agarplatten ausgeführt und die Platten in den Brutschrank bei 36°—37° C gestellt. Schon innerhalb 24 Stunden war eine deutliche Entwickelung, besonders an den Rändern des Eiterausstriches, zu erkennen, die schon dem unbewaffneten, aber deutlicher noch dem mit Lupenvergrößerung arbeitenden Auge, hauptsächlich den Anblick von hellen, kleinen, glänzenden, teils geschiedenen, teils konfluierenden und dann einen Wall bildenden, stark lichtbrechenden Tröpfchen darbot. Mikroskopische Präparate, aus diesen Kolonieen angefertigt, gaben sehr schöne, typische Gonokokken in Reinkultur.

Die Entwickelung hatte sich nach 3 Tagen noch ein wenig ausgebreitet, aber das Bild war im großen und ganzen dasselbe geblieben.

Eine photographische Aufnahme, die wir gern von einer dieser Plattenkulturen haben möchten, konnte aber ohne weiteres nicht gemacht werden, da sich die Kolonieen zu wenig gegenüber der Umgebung abzeichneten. Nach einigen Versuchen gelang es uns, diesem Uebelstand

---

1) Das sieht man z. B. aus der Tatsache, daß Nagano aus Berlin, welcher in diesem Centralblatt. Abt. I. Bd. XXXII. 1902. No. 5 eine Arbeit „über eine neue Sarcina, die im Eiter gonokokkenähnliche Degenerationsformen zeigt", veröffentlicht hat, den Thalmannschen Nährboden, der ihm sehr nützlich gewesen wäre, nicht kannte.

abzuhelfen durch ein sehr einfaches Procédé, das vielleicht auch in anderen Fällen Anwendung finden kann. Wenn man nämlich die gewöhnliche wässerige Methylenblauauflösung (die Löfflersche ist zu diesem Ziele ungeeignet), die in jedem Laboratorium zur Färbung gebraucht wird, einer 50-fachen Verdünnung unterzieht, und diese Flüssigkeit ganz vorsichtig über die Platte ausbreitet, sie dort eine kurze Zeit (gewöhnlich 20—50 Sekunden) beläßt und sie dann wieder mit großer Vorsicht abschenkt, oder besser mit einer Pipette entfernt, dann ist der Nährboden gleichmäßig sehr leicht blau tingiert, die Kolonieen aber haben eine mehr ausgedrückte blaue Farbe angenommen, wodurch sie sich viel deutlicher als vorher von der Umgebung abheben und dadurch sich besser zur Photographie eignen.

Auch bei Beobachtung durch das Mikroskop, bei etwa 60-facher Vergrößerung, bekommt man, wenn die Platte nach diesem Verfahren gefärbt ist, weit schönere Bilder zu sehen, als die, welche der ungefärbte Ausstrich darbietet. Und daß auch diese gefärbten, vergrößerten Bilder sich sehr gut zur Reproduktion — mit dem mikrophotographischen Apparat — eignen, kann man aus der Figur 1 sehen, welche einen Teil von einer Platte, da, wo die Entwickelung mit unbewaffneten Augen kaum erkennbar war, wiedergibt. Man sieht hier eine große Zahl schön gefärbter, ganz kleiner, meist rundlicher, aber auch mehr ovaler Kolonieen, wovon die größeren ein dunkleres Centrum aufweisen. Sich nahe anliegend, sind sie doch durchweg nicht konfluierend, aber deutlich voneinander getrennt, wie dies z. B. bei b zu erkennen ist.

Am dichtesten sind sie auf dem Strich selbst, so daß die mit der impfenden Oese gemachte Schlinge a, b, c, sich als eine Reihe dichtgedrängter kleiner Kolonieen hervorhebt.

Gonokokken I.




Fig. 1. 60fache Vergrößerung eines Teiles der Platte I, da, wo mit dem unbewaffneten Auge nur eine ganz geringe Entwickelung zu sehen war. *a, b, c* stellt den ursprünglichen Strich dar. Färbung mit sehr verdünnter Methylenblaulösung.

Noch eine weitere Erfahrung, welche alsbald die Veranlassung wurde zu einem planmäßigen Weitergehen auf dem sich zeigenden Weg, haben wir bei den erwähnten Färbungsversuchen gemacht. Eine Platte, die wir mit sehr verdünntem Farbstoff behandelt und nicht zu vorsichtig mit Wasser abgespült hatten, so daß ein Teil der Kolonieen losgelassen und sich aufgelöst hatte, fanden wir, nachdem wir sie wieder in den Brutschrank gestellt hatten, am folgenden Morgen über der ganzen Oberfläche dicht mit den allerschönsten tautropfenähnlichen, größeren und

kleineren Kolonieen besetzt, die sich auch mikroskopisch als Reinkulturen von Gonokokken erwiesen.

Bei 60-facher Vergrößerung erschienen die Kolonieen, welche sich auf dem am stärksten tingierten Teil des Agar befanden, am Rande mehr oder weniger von dem aus dem Agar aufgenommenen Methylenblau gefärbt. Viele aber, besonders dort, wo der Nährboden selbst weniger oder nicht gefärbt war, zeigten ihren natürlichen Aspekt von wassertropfenähnlichen, stark lichtbrechenden, hellen, gewölbten, bei durchfallendem Lichte mit einem Stich ins gelbbraune tingierten, mehr oder weniger runden, bisweilen halbkugelförmigen, bald auch zusammenfließenden und dann einen erhabenen Wall bildenden, Kolonieen, von welchen Figur 2 eine gutes Bild giebt, das unschwer darzustellen war.

Statt auf Platten, haben wir schon bald die Impfung auf schrägem Thalmann-Agar in Röhrchen vorgenommen, und da wir auf diesen mindestens ebenso gute Kulturen bekamen, wie auf Platten, und die Röhrchen viel bequemer im Behandeln sind, haben wir uns weiter daran gehalten.

Gonokokken II.

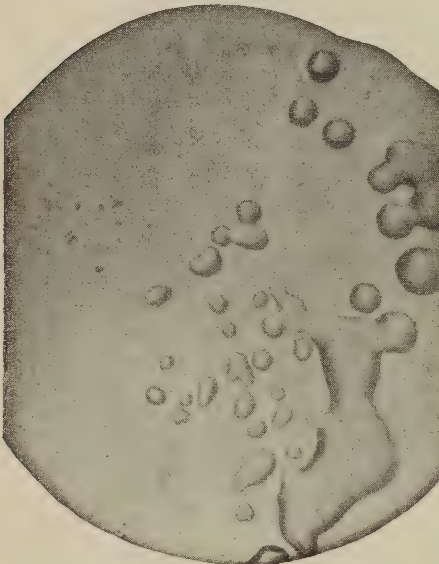


Fig. 2. 60fache Vergrößerung von 24 Stunden alten Kolonieen auf Thalmann-Agarplatte. Das Aussäen geschah durch Ueberschwemmung einer schon Kolonieen enthaltenden Platte mit Wasser (ungefärbt).

Da ich in der Sprechstunde bei jedem Gonorrhöe-verdächtigen Fall eine Uebertragung des sich in der weiblichen Urethra, Vulva oder Vagina befindenden Sekretes auf schrägem Thalmann-Agar vornehme, kamen schon viele in den verschiedensten Krankheitsstadien sich befindende Patientinnen zur Beobachtung, bei welchen sich auf diese Weise Gonokokken nachweisen ließen.

Die Fälle, welche ich zu sehen bekomme, verfolge ich so genau wie möglich, und es will mir vorkommen, daß der Thalmannsche Nährboden von großem Wert ist bei dem Studium der Biologie des Gonococcus und dazu und dadurch auch berufen ist, noch manche Aufklärungen von klinischem Interesse auf dem Gebiete der gonorrhoischen Krankheiten zu geben.

Zweck dieses kurzen Aufsatzes ist in der Hauptsache die Mitteilung, daß wir in dem Thalmannschen Züchtungsverfahren ein äußerst wichtiges Hilfsmittel erblicken für die Diagnose der Gonorrhöe.

Ebenso wie Ströhmberg, ist es auch uns gelungen, um selbst in Fällen, wo klinische Symptome von Gonorrhöen gänzlich fehlten, aber eine früher stattgefundene Infektion wahrscheinlich war, auf diese Weise

Gonokokken nachzuweisen. Man möchte fast sagen: Wenn auch nur vereinzelte und abgeschwächte Gonokokken vorhanden sind, so kommen sie auf Thalmannagar heraus.

Einerseits liegt das in den günstigen Verhältnissen, welche dieser Nährboden dem Gonococcus darbietet, andererseits aber wird das befördert durch die Tatsache, daß der Thalmann-Agar, wenn er auch kein wirklich elektiven Nährboden darstellt, doch weniger günstige Bedingungen für die Entwickelung der hier am meisten in Betracht kommenden übrigen Mikroorganismen schafft.

Diese Bedingungen scheinen sich zu ändern, wenn der Gonococcus in wirklicher Symbiose mit anderen sich befindet, doch können wir hier auf diese und weitere Fragepunkte, die Biologie des Gonococcus betreffend, nicht eingehen.

Ein ganz bequemes Verfahren zur Sicherstellung der Diagnose Gonorrhöe ist das besprochene gewiß. Denn bei einiger Uebung sind die typischen Gonokokkenkulturen, welche sich innerhalb 24 Stunden entwickelt haben, auf den ersten Anblick zu erkennen, und die Anfertigung eines mikroskopischen Präparates durch Ausstreichen von ein wenig der Kultur entnommenen Substanz auf ein mit Wasser versehenes Deckglas und Umkehren desselben auf ein mit Methylenblau leicht bestrichenes Objektglas erfordert kaum Zeit und Mühe.

Außerdem ist die mikroskopische Diagnose von den sich in solchen Präparaten meist in Reinkulturen befindenden Gonokokken leicht, und daher auch von Ungeübten bequem zu stellen, während das Suchen nach Gonokokken in den gewöhnlichen, direkt aus dem Sekret angefertigten Deckglaspräparaten oft ziemlich schwer und zeitraubend ist.

Am allerschönsten bekommt man die Kulturen, wenn man nicht zu viel frischen Trippereiter auf schrägen Thalmann-Agar bringt, darüber das Kondenswasser laufen läßt und das Röhrchen in den Brutofen bei 37° C stellt.

Für praktische Zwecke genügt eine einzelne derartige Impfung. Wenn ich aber die Gelegenheit dazu habe, bevorzuge ich die Uebertragung des zu untersuchenden Sekretes in 3 Röhrchen, einen Thalmann-Agar mit sofortiger Ueberschwemmung durch das Kondenswasser, einen Thalmann-Agarstrich, und eine Strichkultur auf gewöhnlichem Agar zur Erleichterung der Züchtung von anderen, eventuell anwesenden Species.

---

# Eine neue Färbemethode der Bakteriengeisseln.

[Aus dem Ospedale Maggiore zu Mailand, Divisione S. Ambrosio e S. Dionizi, Direktor d'Antonio Ripamonti.]

Von Dr. med. **E. Gemelli.**

Seitdem Koch (1) die Bakteriengeißeln nachgewiesen, sind verschiedene Methoden von anderen Autoren veröffentlicht worden, nach deren Beschreibung es klar erscheint, daß die mikroskopische Technik diesbezüglich auf große Hindernisse gestoßen ist.

Die Anzahl der verschiedenen beschriebenen Methoden genügt schon, um ihre Unvollkommenheit zu zeigen; denn nur zu oft geschieht es, daß sie selbst bei der größten technischen Genauigkeit einen ungenügenden Erfolg geben. Da es mir nun gelungen ist, die Bakteriengeißeln mittels einer neuen unfehlbaren Methode nachzuweisen, so fühle ich mich im Anbetracht des Interesses, welches dieser Gegenstand hier bietet, veranlaßt, die Technik derselben mitzuteilen, welche vortreffliche Präparate und einen stets sicheren Erfolg giebt.

Ich will hier nicht ausführlich von den verschiedenen Methoden sprechen, da ich dieselben bei den Lesern des Centralblattes als bekannt voraussetzen kann, sondern werde nur mit wenigen Worten einige diesbezügliche bibliographische Bemerkungen bringen.

Ich übergehe die ältesten Berichte von Eulenburg, Cohn, Dallinger und Drisdale, welche mehr oder weniger von den Bewegungsorganen der Bakterien sprechen, und betone, daß wir die erste Methode Koch verdanken, welcher als färbende Substanz das Campecheholz gebrauchte, nachdem er vorher eine Kalciumbichromatlösung benutzt hatte.

Die während der folgenden Jahre veröffentlichten Methoden gruppieren sich um 2 Autoren, welche 2 ganz verschiedene Wege verfolgten, um die Bakteriengeißeln nachzuweisen (Löffler (5) und Van Ermengem) (6). Löffler, welcher einen „von den Färbern gebrauchten Prozeß verfolgt, nämlich das Beizen, welches die Färbung der Substanzen bewirkt", schlug eine Methode vor, welche lange Zeit verschiedenartig zur Anwendung kam.

Es war bisher nicht möglich gewesen, die Geißeln in den frisch bereiteten Präparaten nachzuweisen, weil sie denselben Refraktionsindex hatten, wie die gewöhnlichen Kulturmittel, auch konnten sie in den mit den gewöhnlichen Methoden gefärbten Präparaten nicht gesehen werden, weil sie keine Empfänglichkeit für diese färbenden Substanzen haben. Diese Tatsache wurde kürzlich auf andere Art von Konkey erklärt, welcher annimmt, daß die Bakteriengeißeln so klein seien, daß man mit den gewöhnlich gebrauchten Säuren (Gerbsäure) ihre Länge noch vermindert und sie dadurch dicker macht.

Seine Methode wurde von verschiedenen Autoren abgeändert.

Bunge gebrauchte eine Eisenperchloridlösung, anstatt der Kupfersulfatlösung.

Sclavo schlug verschiedene Abänderungen vor, doch ist seine Methode schwer auszuführen, und er selber sagte mir, daß sie ihm selten gelinge, und daß sie für typhi ungleichmäßig wirke und für B. coli ungenügend sei. Trenkmann (10) und Fischer (11) gaben andere Veränderungen an, aber ohne bemerkenswertes Resultat. Da begann Straus die Beize fortzulassen. Seine Methode besteht darin, daß er einen Tropfen von Ziehls Fuchsin auf einen verhältnismäßig verdünnten Tropfen der Kultur gießt, welche auf ein gut gereinigtes Glas ausgebreitet wird.

Das Resultat war aber unbefriedigend, die vorgeschlagenen Veränderungen blieben ebenfalls ohne Erfolg (Sacharoff (14), Klein (15), Hessert (16).

Nicolle und Morax (17) publizierten eine Methode, welche ihrer Ansicht nach zuverlässig sein sollte; sie ist in der Tat die beste Abänderung von Löffler's Methode

(Günther (17), Migula (18), Miquel (19) u. Cambier), da sie am häufigsten sehr gute Präparate liefert. N. u. M. gebrauchen dasselbe Beizmittel, wie Löffler, ohne jedoch Alkalien oder Säuren hinzuzufügen, welches sie gewärmt wiederholt anwenden, und dann dieses Präparat mit der gewöhnlichen Ziehlschen Flüssigkeit färben.

Aber auch dieses Verfahren war ungenügend, die Schwierigkeit bestand darin, den richtigen Augenblick der Beize zu treffen, und Nicolle selbst gab mit Cantacuzène (20) eine neue Methode an, indem er eine Substanz (Ruthenium oxychloratum ammoniacale) gebrauchte, welche wegen einer Amidogruppe dieselben Eigenschaften, wie die gewöhnlichen färbenden Stoffe (Aniline) hat.

Eine ganz neue Richtung hat Van Ermengem eingeschlagen; seine Methode beruht auf der Umwandlung der Silbersalze durch das Licht, ähnlich den photographischen Prozessen. Nachdem das Material auf ähnliche Weise wie von Löffler bereitet und fixiert worden ist, werden die Gläser in eine Mischung von 1 Teil 1-proz. Osmiumsäurelösung und 2 Teile 25-proz. Gerbstofflösung getaucht. Darauf werden sie in ein Bad von Silbernitratlösung (0,5—0,25 Proz.) und dann sogleich in ein reduzierendes und stärkendes Bad (Gallussäure 5, Gerbstoff 3, gelöstes Kaliacetat 10, Wasser 350) gelegt. Schließlich werden sie noch einmal in eine Silbernitratlösung gebracht, wo sie so lange bleiben, bis das Licht auf sie gewirkt hat. Die Präparate, welche man auf diese Weise erhält, sind in der Tat befriedigend, aber sie sind voller Niederschläge, welche den Erfolg benachteiligen.

Nachdem die Forschungen über die Bakteriengeißeln einige Jahre vernachlässigt worden waren, wurden sie neuerdings von einigen Forschern wieder aufgenommen.

Zuerst war es Hinterberger (30), der ein Verfahren beschrieb, welches eine Modifikation des Van Ermengemschen war, einfach und leicht sein sollte, aber leider alle entgegengesetzten Eigenschaften besaß.

Vor allem legt H. den größten Wert auf die Reinigung der Deckgläschen. Auch ohne Erfindung eines besonderen Apparates entspricht seine Reinigungsmethode mit den zahlreichen Waschungen in Säurelösungen und Alkohol den Erfordernissen. Die Färbungsmethode beruht auf der Verwandlung der Silbersalze durch die Geißeln, eine Methode, über welche sich H. mit großer Genauigkeit verbreitet.

Sicher ist es jedoch betrübend, daß nach den zahlreichen Behandlungen der Erfolg so mangelhaft ist, was, wie der Autor behauptet, der Wirkung des Lichtes zugeschrieben werden muß.

Viel einfacher ist das Verfahren von Rossi (21); leider ist aber auch dieses nicht unfehlbar. Außerdem hat es den großen Nachteil, sehr feine und zahlreiche Niederschläge in den Präparaten zu erzeugen, was allerdings — wie der Autor behauptet — der beste Beweis des Erfolges ist.

Nachdem er die Gläser und das Material auf ziemlich dieselbe Weise wie die anderen Autoren bereitet hat, läßt er ohne Fixation eine Mischung der zwei folgenden Lösungen wirken:

a) Gerbstofflösung 25 g in 1 ‰ Kalilaugelösung 100 g.
β) Destilliertes Wasser gr 100
Karbolsäure 2 g
Alkohol 10 g
Fuchsin 25 cg.

Die Mischung von einem Tropfen der ersteren mit 5 Tropfen der zweiten Lösung läßt man 5, 10 bis 15 Minuten wirken, und wirklich erhält man mitunter ganz gute Präparate. Diese Abänderung bedeutet daher einen Fortschritt auf diesem Gebiet, obgleich sie nur eine Modifikation der früheren Methoden ist, bei welchen man auch Gerbstofflösung und Ziehlsche Flüssigkeit verwandte.

Aber die auf diese Weise erlangten Präparate zeichnen sich nicht durch Klarheit aus, außerdem finden sich zu viele Niederschläge darin, welche keine genaue Beobachtung erlauben.

Hierauf folgte eine Arbeit von Alfred Mac Conkey (7). Dieser ist, entgegen Löffler, der Ansicht, daß das Beizmittel den Effekt hat, die Substanz der Geißeln für die Färbung geneigt zu machen. Die Bakteriengeißeln kann man ohne viele Umstände färben, aber ihre große Feinheit erfordert die stärksten Vergrößerungen, und das Beizmittel hat dann den Zweck, die Geißeln zusammenzuziehen, zu vergrößern und auf diese Weise sichtbar zu machen. Von diesem Prinzip ausgehend, beschreibt er eine Methode, mit welcher er erlangt, daß der Mikroorganismus sich in eine Membran hüllt, und daß sich eine Substanz an die Geißeln hängt, wodurch diese sichtbar werden.

Die Deckgläser und das Bakterienmaterial werden mit der gewöhnlichen Technik bereitet.

Das getrocknete Präparat wird eine halbe Stunde Formaldehyddämpfen ausgesetzt, dann wird es in folgende Mischung gelegt:

Zur mit Fuchsin gesättigten Rossischen Flüssigkeit fügt man in ein Glasrohr die gleiche Quantität einer wässerigen 10-proz. Eisenperchloridlösung mit Beifügung von 5-proz. Eisessig. Man läßt die Mischung kochen und fügt dann eine wässerige 10-proz. Eisessiglösung hinzu. Diese Mischung erzeugt einen Niederschlag und muß daher filtriert werden.

Das Präparat erfordert 7 Minuten zur Färbung, dann wird es mit Wasser ausgewaschen und 10 Minuten in eine gesättigte Lösung von Enzianviolett gelegt. Das Protoplasma erscheint dann dicker, die Geißeln färben sich stark violett, der Körper blaßviolett.

Als letzte haben wir die kürzlich beschriebene Methode von Smith (22) zu erwähnen. Man bereitet (nach der Methode, welche ausführlich von George Neumann in der 2. Ausgabe der Bakterien (London, Ed. John Murray) beschrieben ist, eine gesättigte Quecksilberchloridlösung und gießt sie noch warm in ein Gefäß, welches alumin-ammoniacale Krystalle enthält, oder man bereitete nach einer anderen Methode eine gesättigte Quecksilberchloridlösung und eine gleichfalls gesättigte Alumin-Ammoniacallösung und mischt diese beiden Substanzen. Zu 10 ccm dieser Mischung fügt man 10 ccm 10-proz. Gerbstofflösung und 5 ccm Karbolfuchsin hinzu. Man mischt und filtriert und erhält so ein Beizmittel, das sich lange Zeit hält.

Die Deckgläser und das Material werden auf die gewöhnliche Art bereitet. Das filtrierte Beizmittel läßt man warm wirken, bis es dampft (3′), aber nicht bis zum Kochen, wäscht es mit destilliertem Wasser und fügt eine Mischung von 1 ccm Alkohollösung von Enziaviolett mit 10 ccm gesättigter Alumin-Ammonicallösung hinzu.

Auf diese Weise erhält man ziemlich gute, leider aber unsichere Präparate, daher ist auch sie nicht empfehlenswert.

Nach diesen geschichtlichen Angaben gehe ich nun auf die Schilderung meiner Methode ein, deren Erfolg bei den Präparaten ein ganz sicherer ist, wie ich wohl ruhig behaupten kann.

1) Reinigung der Deckgläser. — Dieses ist eine wichtige Operation, und muß mit der größten Genauigkeit vorgenommen werden, damit das Bakterienmaterial gut ausgebreitet werden kann.

Die Gläser werden in einer Waschflüssigkeit von 3-proz. Kaliumbichromat- und Schwefelsäurelösung (100:5) gekocht, dann in reichlichem Wasser gewaschen, und zuletzt in Alkohol gelegt, wo sie bis zum Gebrauche bleiben.

Dann faßt man sie mittels einer Zange, deren Extremitäten von Horn sind, und fährt damit mehrere Male durch die Gasflamme (Bunsen-Brenner).

2) Bereitung des Bakterienmaterials. Eine frische Kultur ist vorzuziehen, aber es ist überflüssig, anzugeben, wie alt sie sein darf, denn das ist verschieden, je nach der Art der zu studierenden Bakterien.

Durchschnittlich sind die ausgesäten Kulturen nach einigen Stunden tauglich und bleiben es 3 bis 4 Tage lang. Die alten Kulturen geben sehr merkwürdige Bildungen, ähnlich denen Hinterbergers vom Milzbrand; es handelt sich höchst wahrscheinlich um entartete Formen.

Am leichtesten erzielt man die Kulturen auf festem Nährboden, aber auch die in flüssigen Nährstoffen sind brauchbar; sie liefern sogar Präparate ohne Niederschlag.

Als bestes Nährmaterial hat sich die Gelatine bewährt, behandelt bei 37° C wie die Bouillon.

Man hatte schon beobachtet, daß mehr oder weniger Natriumchlorid

einen gewissen Einfluß hat, und im allgemeinen hatte auch ich Gelegenheit, zu beobachten, daß die daran weniger reichen die besten Präparate geben. Die besten Nährböden sind die mit Glycerin bereiteten. Eine Platinöse mit auf diese Art bereitetem Material wird auf einem Uhrglas mit destilliertem Wasser (5 ccm) verdünnt und ein Tropfen dieser Verdünnung auf die gehörig vorbereiteten Deckgläschen gelegt, anf denen es sich nun von selbst ausbreitet. Man läßt dann langsam unter einer Glasglocke mit Hilfe von Chlorcalcium trocknen.

3) Färbung. Zur Färbung bediene ich mich der beiden folgenden Lösungen:

a) Kaliumpermanganat 25 cg, destilliertes Wasser 100 g.

b) Zu einer Chlorcalciumlösung (0,75 g in destilliertem Wasser 100 g) im Verhältnis von 20 : 1 wird eine 1-proz. Neutralrotlösung (Grübler) in destilliertem Wasser zugefügt. Es ist durchaus nötig, daß die gebrauchten Substanzen rein sind. Die Deckgläser mit dem nach meiner Angabe ausgebreiteten Material werden dann 10 bis 20 Minuten in eine Kaliumpermanganatlösung (a) gelegt. Dann werden sie gut in destilliertem Wasser gewaschen und in die Neutralrotlösung (b) auf ungefähr 15′, 20′, 30′ gelegt. Die Dauer des Bades hängt von der Art der Bakterien ab. Hierauf werden die Gläser von neuem gewaschen, mit Löschpapier getrocknet und mit Canadabalsam verschlossen.

Dieses Mittel dient zur besseren Erhaltung der Präparate, welche man aber auch in Wasser studieren kann. In den auf diese Weise bereiteten Präparaten erhält man wunderschöne Geißelformen, ohne jede Niederschläge. Der sichere Erfolg macht den Gebrauch empfehlenswert. Auf diese Art habe ich die Geißeln des Typhusbacillus und von B. coli, Cholera, proteus, B. subtilis und anderen Bakterienarten studiert. Außerdem habe ich beim Milzbrand und der Tuberkulose Formen beobachtet, wie sie Hinterberger bei dem Milzbrand als „Faden und Fadennetze“ beschrieben hat.

Ich glaube, daß diese meine Methode im Vergleiche mit den in der Einleitung geschilderten früher gebräuchlichen immerhin eine Besserung der Technik bedeutet.

---

**Litteratur.**

1) Koch, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. II. 1877. Heft 3.
2) Van Tieghem, Bull. de la Soc. de Biologie de France. 1871.
3) Hinterberger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVII. 1900. No. 16. Bd. XXX. 1901. No. 11.
4) Messea, A., Rivista d'igiene e sanità. Roma 1890. No. 14.
5) Löffler, Centralblatt f. Bakt. Bd. VI. 1889. No. 8, 9. Bd. VIII. 1890. No. 20.
6) Van Ermengem, Annales et Bulletin de la Société de Gand. 1893. p. 231.
7) Mac Conkey, A., The Thompson Yates Laborat. Report. Liverpool. 1901.
8) Bunge, R., Fortschr. d. Medizin. 1894.
9) Sclavo, Rivista d'igiene e sanità. Roma. 1892.
10) Trenkmann, Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1890.
11) Fischer, Jahresber. von Baumgarten. 1895.
12) Strauss, Comptes rendus de la Société de biologie. 1892.
13) Nicolle et Morax, Annales de l'Inst. Pasteur. 1892.
14) Sacharoff, Annales de l'Inst. Pasteur. 1893.
15) Klein, Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893.
16) Hessert, Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. 1894.

17) Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. Jena 1893.
18) Migula, System der Bakterien. Bd. I.
19) Miquel et Cambier, Bactériol. Paris 1902.
20) Nicolle et Cantacuzène, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1893.
21) de Rossi, G. Archivio per le scienze mediche. Vol. XXIV. No. 15.
22) Letchworth Smith, Publications Cornell University Medical College. 1901.

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

## Inhalt.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXIII. No. 5.

Nachdruck verboten.

# Contribution à l'étude des caractères morphologiques et des cultures de Bacterium pestis et des rapports de ce bacille avec Bacterium pseudotuberculosis rodentium[1]).

[Laboratoire d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **Bruno Galli-Valerio.**

Avec 2 planches.

La variabilité des caractères morphologiques et des cultures de B. pestis, peut dans certains cas rendre difficile le diagnostic de ce bacille. Toute contribution à l'étude de cette question, pourra faciliter les recherches. J'ai complété cette étude par une comparaison du B. pestis avec B. pseudotuberculosis rodentium, isolé par moi d'un cas de pseudotuberculose spontanée du cobaye[2]) bacille qui, sous bien de rapports, se rapproche de B. pestis. J'étudiérai successivement dans ce travail:

1) Les caractères des cultures de B. pestis.

2) La morphologie de B. pestis dans les différents milieux de culture.

3) Les caractères différenciels de B. pestis et B. pseudotuberculosis rodentium.

## 1. Caractères des cultures de B. pestis.

Les températures auxquelles j'ai pratiqué les cultures, sont celles de 18°—20° et 37°. La culture avec laquelle j'ai travaillé, se développait mieux entre 18° et 20° qu'à 37°, et je suis complètement d'accord avec M. Lignières[3]) qui déconseille de faire les premières cultures de B. pestis à 37°—38°, parce que souvent il ne s'y développe pas. J'ai en tout cas, noté souvent un retard dans le développement des cultures, placées à 37°, sur celles placées à 20°. Des expériences comparatives avec B. pseudotuberculosis rodentium, on verra que des cultures de B. pestis se sont légèrement dévéloppées, à une température oscillant entre + 1° et — 5°, et transportées après 10 jours à 20°, elles se sont très bien développées, chose qui s'accorde complètement avec les recherches d'autres observateurs, tels que Wladimiroff, Kressling et Kasansky.

Voyons maintenant, quels ont été les caractères des cultures sur les différents milieux:

a) Gélatine: Sur plaque de Petri à 20°, apparaissent après 2 jours, des colonies blanchâtres, de la dimension d'une pointe d'épingle. Si on les examine au microscope, elles se présentent rondes, à contour net ou légèrement ondulé, d'une coloration jaunâtre, finement granuleuses, entourées par une zone plus claire, sur laquelle la partie centrale apparait légèrement surélevée.

1) Ce travail a été présenté au: Seventieth annual meeting British medical association (Section: Tropical diseases), Manchester (29 juillet, 1. août 1902).

2) Archives de parasitologie. T. IV. 1901. No. 2. p. 288.

3) Annales de l'Instit. Pasteur. 1901. p. 808.

Par piqûre, à 20°, on voit apparaître en surface, après 48 heures, une petite tache, à peine visible, tandis qu'en profondeur, il n'y a aucun développement.

Ensuite, la tache de la surface s'agrandit, sous la forme d'une plaque blanche, d'un mill. de diamètre, et en profondeur se forme une ligne de dévéloppement blanchâtre, sur les bords de laquelle on remarque des colonies de la même couleur, de la dimension d'une pointe d'épingle. La plaque de la surface, augmente toujours plus, et se présente blanche, à contours ondulés, et à bords plus clairs que le centre.

b) Gélatine de Piorkowski: Sur plaque de Petri à 20°, apparaissent quelques rares colonies, à contours irréguliers, légèrement festonnés, jaune-sombres, granuleuses. Plusieurs de ces colonies, présentent des prolongements à la périphérie. Après 5 jours, on voit quelques-unes des colonies de la surface, s'étaler, et présenter un prolongement, rarement deux, en queue de comète, nuageux, jaunâtres. Si on examine à la loupe, on voit que cet aspect est dû à une grande colonie, de laquelle part une pléiade de petites colonies rondes (fig. A, pl. II).

c) Agar: Sur plaque de Petri à 20°, on voit apparaître, en 18 à 24 heures, des colonies de la dimension d'une pointe d'épingle, qui au microscope sont finement granuleuses, à contours irréguliers, festonnés.

Par piqûre à 20°, apparaît en 18–24 heures, en surface, une petite plaque blanchâtre qui en 48 heures, présente 2 mm de diamètre, les bords festonnés, le centre surélevé comme un bouton. Dans la profondeur, on remarque une mince ligne blanchâtre, à contours irréguliers, formée par une série de colonies comme pointe d'épingle. La plaque de la surface, devient toujours plus grande, à contours nettement festonnés, à périphérie plus claire que le centre, et après 2 mois elle présente de fines lignes, rayonnantes du centre à la périphérie.

d) Agar glycériné et glycosé: Par piqûre à 20°, après 18 heures, on remarque une petit développement en surface, tout à fait analogue à celui sur agar, mais plus petit. Seulement après 6 jours, la plaque présente la dimension de 2 mm avec de petites colonies tout autour. Dans la profondeur on remarque le même aspect que sur agar. La culture n'a aucune tendance à s'accroître.

e) Sérum de bœuf gélatinisé incliné: A 20°, on remarque après 18 heures une très légère trainée pointillée, à peine visible. Après 6 jours la traînée est très nette, formée par une série de colonies blanchâtres, de la dimension d'une tête d'épingle. Petit à petit, toute la surface du sérum, est couverte par une couche blanchâtre, granuleuse.

f) Liquide pleurésique gélatinisé incliné: A 20°, après 18 heures, mêmes caractères que sur sérum de bœuf. Ensuite, développement sous forme d'une belle culture blanche, luisante, formée par de nombreuses colonies bombées, comme têtes d'épingles.

g) Sérum de lapin gélatinisé incliné: A 20°, après 18 heures, développement très distinct, sous forme d'une trainée gris-perle, luisante. En 3 jours, il y a une couche abondante, visqueuse, gris-pâle, formée par de petites colonies rondes bombées. Très souvent, ce développement, est plus rapide que sur tous les autres milieux de culture.

h) Sérum de lapin gélatinisé, par piqûre: A 20°, on remarque en surface une couche blanchâtre, étalée, à bords festonnés. Après un mois, cette couche se présente sous la forme d'une feuille blanchâtre, brillante, à contours déchiquetés.

i) Sérum de lapin liquide: A 20° on remarque trouble du sérum et formation au fond d'un dépôt blanchâtre. A mesure que le dépôt se forme, le sérum s'éclaircit.

j) Pomme de terre: A 20°, après 18 heures, point de culture visible. Ensuite, la surface de la pomme de terre devient luisante et humide et par raclage, au 6. jour, on y trouve B. pestis. Dans les cultures d'un mois, on remarque se détacher, sur la surface humide de la pomme de terre, quelques boutons blancs, luisants, comme têtes d'épingle. Même par des repiquages successifs sur pomme de terre à 20°, je n'ai jamais pu obtenir un développement plus manifeste, contrairement à Lignières[1]) qui par repiquages aurait obtenu des cultures perlées caractéristiques.

k) Pomme de terre glycérinée: A 20°, même caractères que sur pomme de terre.

l) Carotte cuite: A 20°, mêmes caractères que sur pomme de terre. La culture ne devient pas plus riche par repiquages successifs sur carotte.

m) Bouillon peptonisé: A 20°, si le bouillon est frais, on voit apparaître un mince voile en surface qui se dépose en lambeaux au fond. Le bouillon devient clair, et présente au fond un dépôt grisâtre, épais. A la même température, si le bouillon est vieux, le voile ne se forme pas.

n) Bouillon peptonisé lactosé: A 20° mêmes caractères que dans le bouillon peptonisé. Légère fermentation du lactose.

o) Bouillon peptonisé glycosé: A 20° mêmes caractères que dans le bouillon peptonisé, mais point de fermentation du glycose.

p) Bouillon pour la réaction de l'indol: Par la méthode du nitrite de potasse et de l'acide sulfurique, je n'ai point eu d'indol. Par la méthode de Crisafulli à l'esquille de pin, j'ai obtenu une légère réaction de l'indol.

q) Lait: A 20° point de coagulation du lait.

## 2. Morphologie de B. pestis.

Pour étudier la morphologie de B. pestis, je me suis servi de préparations colorées par les différentes couleurs d'aniline, mais surtout par la fuchsine phéniquée de Ziehl. La coloration par le Gram a été toujours négative. Avec la coloration proposée par Neisser pour le bacille de la diphtérie, j'ai constaté, dans les formes courtes, des grains sombres placés aux extrémités, et dans les formes en filament, des grains analogues placés par ci par là le long des filaments.

Voyons maintenant, quels ont été les caractères du bacille dans les différents milieux de culture.

a) Gélatine à 20° (fig. 1 et 2, pl. I): Dans les cultures âgées de 18 heures; formes en cocon de 3 $\mu$, formes à espace clair de 4—6—8 $\mu$; formes allongées de 10—12 $\mu$, se terminant parfois renflées en massue, parfois avec des chaînettes de bacilles. Après un mois, mêmes formes et en plus formes en massue, courbées et en coque. Après 2 mois et $^1/_2$, à côté des formes ovoïdes et en bâtonnet, rares formes allongées en filaments courbés. Les colonies sur plaques de gélatine à 20°, décalquées après 7 jours, se présentent formées par des bacilles ovoïdes

1) Annales de l'Instit. Pasteur. 1901. p. 808.

ou en cocon, uniformément colorés, disposés parallèlement les uns aux autres.

b) Agar à 20° (fig. 3 et 4, pl. I): Après 18 heures, formes analogues à celles sur gélatine, et en plus quelques bacilles disposés en chaînettes. Après un mois, on voit à côté de ces formes, des bacilles courbés, et des massues de 14 μ. Après 2 mois et $^1/_2$, beaucoup de formes ovoïdes à caractères ordinaires, et nombreuses formes involutives.

c) Agar glycériné et glycosé à 20° (fig. 5 et 6, pl. I): Mêmes formes que sur agar, mais les vieilles cultures, montrent beaucoup plus de formes involutives, irrégulières, à massues très épaisses.

d) Sérum de bœuf gélatinisé, à 20° (fig. 7 et 8, pl. I): Après 18 heures, beaucoup de formes courtes, presque en coque, et surtout des formes ovoïdes à espace clair de 2—3 μ. A côté de ça, il y a des formes en massue, parfois avec un bourgeon latéral, et de gros filaments de 10—20 μ avec des espaces clairs. Après 1 mois, on trouve surtout des bacilles ovoïdes et des formes en massue, en sphère, en streptocoque, et quelques filaments de 10 μ. Plusieurs formes semblent entourées d'une auréole rose, analogue à une capsule.

e) Liquide pleurésique, gélatinisé, à 20° (fig. 9 et 10, pl. I): Même aspect que sur sérum de bœuf. Dans les vieilles cultures il y a aussi quelques formes en poire.

f) Sérum de lapin gélatinisé, à 20° (fig. 11 et 12, pl. I): Il y a d'abord des formes courtes, analogues à des coques de 1,5 μ; formes ovoïdes uniformément colorées de 2—3 μ et surtout des formes ovoïdes à espace clair, de 2—3—4 μ. A côté de ces formes, on trouve des filaments de 20—40—60—80 μ, droits ou ondulés, le plus souvent légèrement renflés à une des extrémités, jamais ramifiés, mais ayant parfois l'aspect ramifié à cause de la juxtaposition de filaments plus courts. Quelques-uns de ces filaments, semblent en voie de scission, et présentent, sur leur parcours, des points avec l'aspect de streptobacilles. Après un mois, on trouve de formes courtes de 1—1,5—2 μ, plusieurs disposés en chaînettes de 5—6—7 éléments.

g) Sérum de lapin liquide, à 20° (fig. 13 et 14, pl. I): Formes ovoïdes, à espace clair, disposées en partie en chaînettes. Soit les formes isolées, soit celles en chaînettes, apparaissent entourées par une zone faiblement colorée par les couleurs d'aniline, analogue à une capsule. Un mois et 2 mois et $^1/_2$ après, il y a les mêmes formes que sur sérum de lapin gélatinisé.

h) Pomme de terre à 20° (fig. 15 et 16, pl. I): Les formes qu'on trouve d'abord, sont celles en cocon de ver à soie, et à côté de celles-ci des formes en massue de 6—8 μ, des filaments de 20—40—50 μ, parfois légèrement renflés en massue. Après un mois, bacilles ovoïdes, et surtout formes rondes et formes en épaisses massues irrégulières.

i) Pomme de terre glycérinée, à 20° (fig. 17 et 18, pl. I): Formes en cocon, mais surtout formes très courtes, ovoïdes, en coque, isolées ou en chaînettes, de 5—6—7 éléments. Après 2 mois et $^1/_2$, formes ovoïdes, et beaucoup de formes d'involution en chapelet et en altère.

j) Carotte cuite à 20° (fig. 19 et 20, pl. I): Formes analogues à celles sur pomme de terre et dans les vieilles cultures beaucoup de formes en longs bâtonnets, en chapelet, et surtout en massues, parfois ramifiées. Plusieurs de ces formes semblent être le résultat d'une fusion de masses bacillaires dégénérées.

k) Bouillon peptonisé à 20° (fig. 21 et 22, pl. I): Formes ovoïdes ou en cocon, en chaînettes de 3—4—15 éléments. Après 1 à 2 mois, il y a beaucoup de formes en coque.

l) Bouillon peptonisé lactosé à 20°. Mêmes formes qu'en bouillon peptonisé.

m) Bouillon peptonisé glycosé à 20° (fig. 23, pl. I): Mêmes formes que dans le bouillon peptonisé, mais dans les vieilles cultures, il y a de nombreuses formes involutives en massue et en altère, très irrégulières. Plusieurs de ces formes involutives, présentent des vacuoles et elles semblent être le résultat de la fusion de plusieurs bacilles dégénérés, agglutinés entre eux.

n) Lait à 20° (fig. 24 et 25, pl. I): Au début, formes en coque, de 1,5 $\mu$, et formes en cocon de ver à soie, de 3 $\mu$. Après un mois, mêmes formes, et en plus quelques formes en massue et en chapelet. Après 2 mois et $^1/_2$, formes ovoïdes, et grosses formes involutives rondes et en poire. Parmi ces formes, plusieurs semblent entourées d'une auréole colorée en rose par la fuchsine.

Si nous jetons un coup d'œil sur les caractères des cultures et les caractères morphologiques que j'ai observé dans l'étude de B. pestis, nous pouvons constater les faits suivants:

Le développement plus rapide et plus abondant de B. pestis dans les cultures à 20° plutôt que dans celles à 37°. Le peu de développement de ce bacille sur agar glycériné et glycosé, sur pomme de terre simple et glycérinée, et sur carotte cuite. Le développement assez abondant et rapide, sur sérum de lapin gélatinisé. La non-coagulation du lait, la légère fermentation du lactose, et la légère réaction de l'indol. En même temps, nous notons parfois un dévéloppement caractéristique en comète, sur gélatine de Piorkowski.

Par rapport à sa morphologie, on voit que dans tous les milieux de culture, à côté des formes typiques on peut en trouver des atypiques, chose confirmée par tous les observateurs et entre autres par Skschivan[1]) et par Kolle[2]). Si parmi les formes atypiques, il y en a plusieurs qu'on doit considérer comme des formes involutives, vu leur apparition dans les vieilles cultures, et surtout leur aspect très irrégulier et leurs grandes dimensions, il y en a d'autres qui représentent des formes évolutives du B. pestis, comme j'avais déjà admis dans un autre travail[3]). En effet, tandis que dans certaines cultures au début on voyait des formes en filaments et en massues, après un certain temps, ces formes disparaissaient ou se fesaient plus rares, pour être remplacées par des formes normales qui semblaient en dériver. En outre, dans certains cas, on voyait ces formes filamenteuses se présenter en voie de segmentation. Tel est le cas des filaments observés dans les jeunes cultures sur sérum de lapin.

Je n'ai jamais constaté la mobilité des bacilles, mobilité signalée par Kitasato, ni la présence de cils, signalée par Gordon. Dans quelques cultures j'ai noté autour des bacilles, une zone faiblement colorée par les couleurs d'aniline qui aurait pu être prise pour une capsule. C'est l'auréole observée par Kitasato et Yersin, décrite par

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. 1900. No. 10/11. p. 289.
2) Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXXVI. 1901. p. 397.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. 1900. p. 842.

Zettnow[1]), trouvée aussi parfois par Kolle[2]). Avec Loeffler, je ne crois pas qu'il s'agit d'une véritable capsule, car sa présence n'est pas constante et on la trouve généralement, autour des formes involutives.

Quant aux spores signalées par Ibrahim Bey[3]), je n'en ai jamais trouvé trace. J'ai plutôt noté, dans les vieilles cultures, le présence de granulations fortement colorées par la fuchsine et que Schultz[4]) considère comme des granulations de protoplasma condensé et qui serviraient à la conservation de la vitalité de B. pestis.

3. Comparaison de B. pestis avec B. pseudotuberculosis rodentium.

Parmi les bacilles qui se rapprochent le plus de B. pestis, B. pseudotuberculosis rodentium, occupe une des premières places. Le fait qu'il peut déterminer, par infection naturelle chez le cobaye, des lésions pouvant en partie simuler celles provoquées par les inoculations de B. pestis, pourrait, dans quelques cas porter à des faux diagnostiques, à la suite de l'inoculation de matériel suspect de peste à des cobayes atteints de pseudotuberculose.

Je me suis donc occupé de comparer entre eux ces deux bacilles, soit au point de vue des caractères des cultures et de la morphologie, qu'au point de vue des résultats de l'inoculation sur les animaux.

a) Cultures sur agar par piqûre: Si l'on ensemence 2 tubes d'agar à 37°, l'un avec B. pestis, l'autre avec B. pseudotuberculosis rodentium, on constate qu'après 24 heures, les 2 cultures présentent le même aspect et le même développement. Après 48 heures les 2 cultures présentent en surface une plaque de 2 mm de diamètre, à bords festonnés, à centre surélevé, formant comme un bouton. Mais la plaque de B. pseudotuberculosis est plus blanche que celle de B. pestis et la partie non surélevée est finement granuleuse, comme de la filigrane, de la sorte qu'on peut très bien distinguer les 2 cultures l'une de l'autre. Ce n'est qu'après 10 jours, que la culture de B. pestis devient aussi légèrement granuleuse, mais toujours moins que celle de B. pseudotuberculosis. Cette différentiation n'est plus possible si on place les tubes à 20° au lieu qu'à 37°, car B. pseudotuberculosis donne des cultures lisses comme celles de B. pestis, et celui-ci donne parfois, des cultures granuleuses et rayées.

b) Cultures sur agar en plaques: Sur plaques d'agar à 37°, après 24 heures, on remarque que les colonies de B. pestis apparaissent au microscope, à contours irréguliers, sans noyau central, tandis que celles de B. pseudotuberculosis sont rondes, à noyau central.

c) Cultures sur plaques de gélatine de Piorkowsky: A 20°, après 48 heures, B. pestis donne des colonies granuleuses, jaune-sombres, à contour irrégulier. B. pseudotuberculosis donne des colonies plus petites, à centre plus sombre que la périphérie, bombées, granuleuses, à contour très net. Ces caractères différenciels persistent même quand les colonies des 2 bactéries sont plus développées. En outre, plusieurs colonies de B. pestis présentent l'aspect de comètes dont j'ai déjà parlé (fig. A, pl. II).

1) Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXI. p. 165.
2) Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XXXVI. p. 397.
3) La médecine moderne. 1899. No. 75.
4) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. 1901. No. 5. p. 169.

d) Cultures à basses températures: Nous savons que B. pestis est très résistant aux basses températures (Wladimiroff et Kresling, Kasansky). Des tubes d'agar incliné, ensemencés avec B. pestis et B. pseudotuberculosis, sont placés dans une boîte entourée de glace et laissés exposés en hiver, jour et nuit, hors d'une fenêtre. La température a varié entre + 1° et — 5°. Après 15 heures la culture de B. pestis, présente un léger développement, tandis que celle de B. pseudotuberculosis ne présente rien et ce n'est qu'après 48 heures qu'elle, commence à se développer. Au 8. jour, la culture de B. pestis est aussi légèrement développée le long de la ligne de piqûre. Après 10 jours les 2 cultures sont portées à 20° et en 48 heures elles présentent un développement abondant, celle de B. pseudotuberculosis sous forme d'une culture blanche, à ligne centrale lisse, à bords festonnées; celle de B. pestis sous forme d'une culture aussi blanche, à ligne centrale blanche, à bords plus finement festonnés.

e) Cultures sur agar de Hankin 3 % de NaCl: On sait que l'agar de Hankin est celui qui se prête mieux pour l'étude des

| Caractères des cultures | | Morphologie | |
|---|---|---|---|
| B. pestis | B. pseudotuberculosis | B. pestis | B. pseudotuberculosis |
| Cultures par piqûre à 20°. | | | |
| Après 48 heures petit bouton blanc au point de la piqûre, et ligne mince, blanchâtre dans la profondeur. Après 4 jours, plaque blanche grisâtre, à centre plus élevé que les bords et tout autour une série de petites colonies, comme tête ou pointe d'épingle, de la même couleur. Après 9 jours mêmes caractères, mais développement moindre que chez B. pseudotuberculosis | Après 48 heures la surface de l'agar est couverte par un semis de colonies comme pointe d'épingle, blanc grisâtres, qui dans certains points se fondent entre elles en une couche blanc grisâtre, brillante. En profondeur, ligne de dévéloppem. à bords festonnés. Après 4 jours, toute la surface de l'agar est couverte par une plaque blanc grisâtre luisante, sur les bords de laquelle on remarque quelques petites colonies comme tête d'épingle. Mêmes caractères après 9 jours. | Après 48 heures, formes ordinaires, ovoïdes, à espace clair, et très nombreuses chaînettes, longues, enchevêtrées. Après 4 jours il y les mêmes formes et en plus des chaînettes à fausses ramifications, de courts filaments parfois en massue, et des formes involutives en coques, poires, levures. Après 9 jours mêmes formes, mais les formes involutives semblent plus rares (fig. 1, 2, 3, pl. II). | Après 48 heures, formes normales en cocon et ovoïdes, uniformément colorées, plusieures en chaînettes. En outre il y a quelques formes 2—3 fois plus longues que les normales, un peu plus épaisses, légèrement courbées sur elles-mêmes, et dont quelques-unes présentent des espaces clairs. Après 4 jours, mêmes formes, avec quelque rares filaments épais. Au 9. jour, prédominent les bacilles minces, droits, ou légèrement courbés et quelques formes retrécies au centre (fig. 5, 6, 7, pl. II). |
| Cultures par piqûre à 37°. | | | |
| Très léger dévéloppement le long de la ligne de piqûre, sous forme d'une trainée blanchâtre, avec léger développement comme tête d'épingle en surface. | Mêmes caractères que celle de B. pestis, mais un peu plus développée. | Formes normales très rares. Formes involutives très nombreuses en levure, en massues parfois bifurquées en chapelets, tout à fait irrégulières, bien différentes de celles qu'on observe d'ordinaire, sur les autres milieux de culture (fig. 4, pl. II). | Formes normales très rares. Nombreux filaments simples ou ramifiés, entortillés, de 10—20—40 μ, parfois légèrement renflés en massue. Peu de formes d'involution analogues à celles de B. pestis (fig. 8, pl. II). |

formes involutives de B. pestis. J'ai étudié comparativement sur ce milieu, le développement et la morphologie de B. pseudotuberculosis et de B. pestis. Voici résumé dans un tableau le résultat de cette comparaison.

f) Cultures sur agar de Hesse: J'ai comparé aussi entre elles, les cultures sur agar de Hesse à 20° et à 37° de B. pestis et B. pseudotuberculosis. Voici aussi résumés dans deux tableaux les résultats de cette comparaison:

| Caractères des cultures | | Morphologie | |
|---|---|---|---|
| B. pestis | B. pseudotuberculosis | B. pestis | B. pseudotuberculosis |
| | Cultures par piqûre à 20°. | | |
| Après 48 heures, point de développement en surface. Ligne blanchâtre le long de la piqûre. Après 4 jours apparaît en surface un léger nuage blanchâtre | Après 48 heures, semis de petites colonies blanchâtres, à peine distinctes, à la surface, et en profondeur, ligne très mince, blanchâtre. Après 4 jours, toute la surface est couverte par une couche blanchâtre. | Après 48 heures, formes normales, quelques-unes en chaînettes plus minces que sur agar de Hankin. Quelques bâtonnets, deux fois la longueur d'une forme normale. Plusieurs formes involutives en levure et en massue. Après 9 jours, à côté de formes normales à espace clair, il y a des formes involutives nombreuses en poire et en levure (fig. 9, 10, 11, pl. II). | Après 48 heures, formes normales uniformément colorées, plus petites que sur agar de Hankin, et de nombreuses formes rondes comme des coques. Point de formes d'involution. Seulement après 4 jours apparaissent de rares formes involutives, rondes ou ovoïdes (fig. 13, 14, 15, pl. II). |
| | Cultures par piqûre à 37°. | | |
| Ne donne qu'une ligne blanchâtre le long de la piqûre. | Mêmes caractères que celle de B. pestis, mais en plus quelques colonies petites, nuageuses à la surface de l'agar. | Formes ovoïdes uniformément colorées, et formes involutives en poire et en coque (fig. 12, pl. II). | Formes normales à espace clair isolées ou en amas et courtes chaînettes. Formes involutives rares en poire ou ovoïdes (fig. 16, pl. II). |

g) Inoculations sur les cobayes: Il est bien connu que si l'on porte une anse de culture de peste bubonique sur la conjonctive, la peau rasée, le nez des cobayes, on détermine chez les animaux ainsi traités, le développement de lésions typiques de peste bubonique, tant vrai que ces procédés d'inoculation, ont été conseillés comme moyen de diagnostic de la peste. J'ai fait ces mêmes inoculations, avec une culture virulente de B. pseudotuberculosis. Pour ces essais je me suis servi d'une culture isolée parmoi d'un cobaye qui venait de succomber à la pseudotuberculose. Ce cobaye avait été inoculé sous la peau de la cuisse avec 1 ccm d'une culture en bouillon de B. pseudotuberculosis rodentium, obtenue d'une culture sur agar âgée de plus d'une année. Cet animal avait succombé après 9 jours, présentant forte infiltration oedémateuse aupoint inoculé, avec un chapelet de ganglions à contenu puriforme. Dans les poumons ainsi que dans le foie, il y avait plusieurs tubercules blancs de la dimension d'une tête d'épingle. La rate était tuméfiée, avec un semis de tubercules comme pointe et comme tête d'épingle.

Les cultures isolées de ce cobaye, m'ont servi pour les expériences suivantes:

1) Un cobaye est rasé sur un petit espace de l'abdomen. On y applique quelques gouttes d'une culture en bouillon de B. pseudotuberculosis, frottant légèrement. L'animal succombe après 13 jours et présente les lésions suivantes: Au point inoculé, légère croûte fendillée, en dessous de laquelle il y a une surface rouge, humide mais sans pus. Sous le péritoine immédiatement dans la direction du point inoculé, il y a une masse de la dimension d'une grosse noisette, aplatie, formée par la réunion de deux ganglions tuméfiés, entourés d'oedème sanguinolent. Les poumons sont blancs, infiltrés d'exsudat, avec quelques tubercules comme tête d'épingle. Foie parsemé de tubercules blancs, comme pointe et tête d'épingle. La rate est environ 4 fois plus grosse qu'une rate normale, remplie de tubercules blancs, comme pointe et comme tête d'épingle. Elle a éclaté à une extrémité, et donné un épanchement de sang dans l'abdomen.

2) Un cobaye est frotté dans la narine droite, avec un tampon de coton imbibé de culture de B. pseudotuberculosis. Dix jours après il présente un écoulement purulent de cette narine qui apparaît obstruée. Au 13. jours, les 2 narines sont obstruées et l'animal respire difficilement. Il meurt au 17. jour et présente: Narine droite obstruée par un exsudat purulent séro-sanguinolent, avec tuméfaction et hyperémie de la muqueuse. La narine gauche présente les mêmes lésions, mais moins accentuées. Ganglions sous-maxillaires, fortement tuméfiés, avec infiltration oedémato-sanguinolente tout autour. Point de lésions de la trachée ni des bronches. Plusieurs tubercules dans les poumons, quelques-uns dans le foie et dans la rate qui est tuméfiée. Tous ces tubercules sont blancs, et de la dimension d'une tête d'épingle.

3) Un cobaye reçoit sur la conjonctive de l'œil droit quelques gouttes d'une culture en bouillon de B. pseudotuberculosis. L'animal succombe après 8 jours et présente: Forte tuméfaction des ganglions sous-maxillaires de droite, entourés d'une infiltration séro-sanguinolente. Point de lésions des poumons et du foie. Rate tuméfiée avec un très fin pointillé blanc, et un tubercule comme tête d'épingle à une extrémité. Ce cobaye simule tout à fait un cobaye mort de peste bubonique par inoculation à la conjonctive.

4) Inoculations sur d'autres rongeurs: J'ai fait aussi des inoculations sous-cutanées avec ces mêmes cultures de B. pseudotuberculosis rodentium, sur différents rongeurs susceptibles de contracter la peste bubonique, mais tandis qu'un hamster inoculé sous la peau avec $^1/_2$ ccm d'émulsion est mort en 4 jours présentant tuméfaction de la rate avec quelques fins points blancs, hyperémie de foie et de l'intestin grêle, des Mus rattus, des Mus decumanus, et des rats blancs n'ont présenté aucun trouble morbide, comme j'avais du reste déjà vérifié dans un autre travail[1]).

Les observations que je viens d'exposer, démontrent qu'entre B. pestis et B. pseudotuberculosis rodentium, il y a la plus grande analogie, soit au point de vue des cultures et de la morphologie, que des inoculations sur les cobayes. Toutefois si on les étudie comparativement, on trouve des caractères qui les différencient entre eux, et dans tous les cas douteux, il ne faudra pas hésiter à appliquer les différentes méthodes comparatives que j'ai exposé. Les caractères différenciels entre les 2 formes de B. pestis et B. pseudotuber-

1) Archives de parasitologie. T. IV. 1901. No. 2. p. 288.

culosis rodentium que j'ai comparé, peuvent se résumer comme suit:

| B. pestis | B. pseudotuberculosis rodentium |
|---|---|
| Plaques d'agar et de gélatine | |
| Colonies à contours festonnés. | Colonies rondes à noyau central. |
| Plaques de gélatine de Piorkowsky | |
| Colonies sans noyau à bords sinueux ou à prolongements en queu de comète | Colonies à noyau, rondes |
| Agar par piqûre à 37° | |
| Plaque de surface lisse | Plaque de surface grenue, à filigrane |
| Agar de Hankin 3 % de NaCl à 20° | |
| Chaînettes et rares formes d'involution | Chaînettes plus rares. Pas de formes d'involution |
| Agar de Hankin 3 % de NaCl à 37° | |
| Formes involutives très irrégulières, abondantes. | Formes involutives plus rares |
| Agar de Hesse à 20° | |
| Quelques chaînettes et formes involutives | Rares formes involutives |
| Agar de Hesse à 37° | |
| Nombreuses formes involutives | Rares formes involutives |
| Lait | |
| Point de coagulation | Coagulation |
| Mus rattus, Mus decumanus et rat blanc | |
| Pathogène | Non pathogène |
| Cobayes | |
| Pathogène. Pseudotubercules rares | Pathogène. Pseudotubercules fréquents |

Note: Toutes les figures ont été dessinées à la chambre claire. Tube 16, oc. comp. 8. Imm. hom. La fig. A, pl. II, est à peu près de la grandeur naturelle.

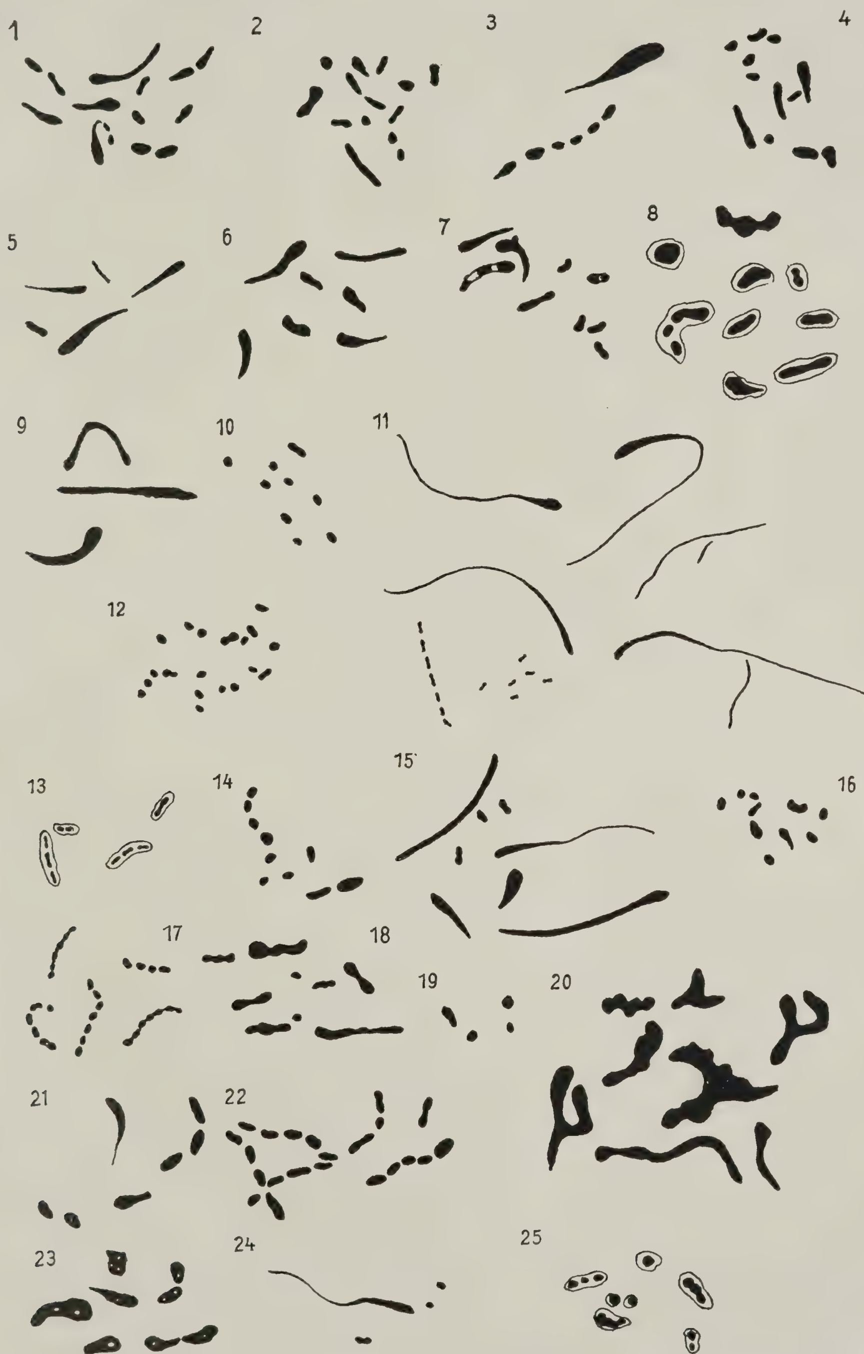


# Weiteres über die Einwanderung der Ankylostomen von der Haut aus.

Von Dr. **A. Looss**, School of Medicine, Cairo.

Meine Behauptung, daß die Larven von *Ankylostomum duodenale* fähig seien, auch von der Haut aus nach Durchbohrung derselben in den menschlichen Darm zu gelangen und dort zur Geschlechtsreife heranzuwachsen, hat kürzlich Grassi durch seinen Schüler Pieri für falsch erklären lassen[1]). Ich kann es mir nicht versagen, die von den

1) Sul modo di trasmissione dell' Anchilostoma duodenale. (Rendic. (?) R. Accad. Lincei. Vol. XI. 1° sem. serie 5ª. fasc. 5°. p. 217—220. Seduta del 2 marzo 1902.) In neueren Litteraturverzeichnissen finde ich noch zwei Mitteilungen Pieris angegeben, die einen ähnlichen Titel tragen (Sul modo di trasmissione dell' Anchilostoma duodenale. [Policlinico 1902. 12 aprile] und Sur le mode de transmission de l'Ankylostoma duodenale. [Arch. ital. de Biologie. Vol. XXXVII. 1902. fasc. 2. p. 269—273.]). Ob der Autor in




Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

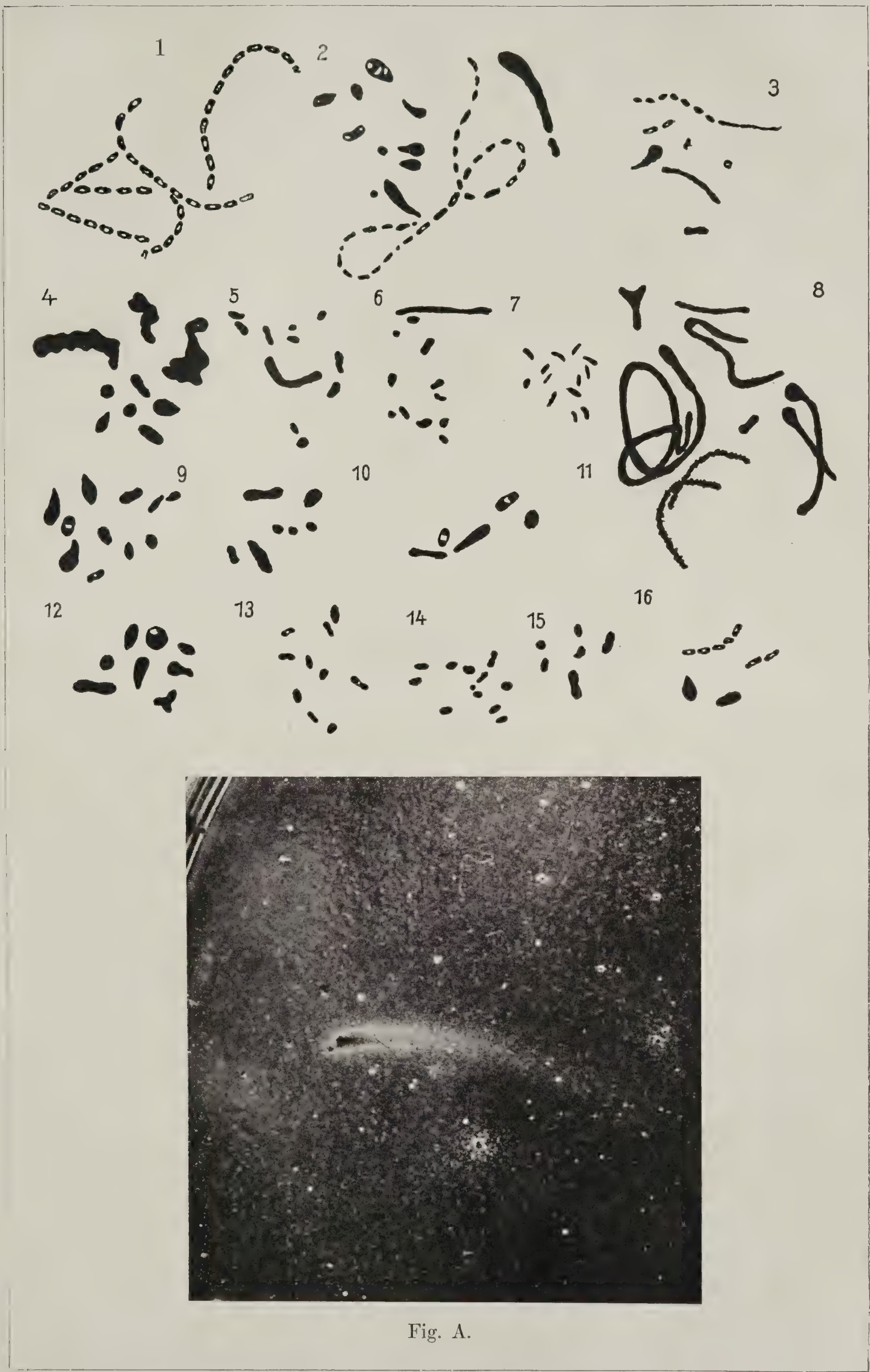



Fig. A.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

beiden Autoren hierbei an meinen Angaben geübte Kritik, ebenso wie ihre eigenen Angaben zunächst einer kurzen Gegenkritik zu unterziehen. Wie man sich entsinnen wird, gründete sich meine „Hypothese“ in der Hauptsache auf 2 Tatsachen. Einmal hatte ich mich, nachdem ich ca. 7 Monate mit den Larven gearbeitet, dieselben aber streng vom Munde fern gehalten, sehr stark mit Ankylostoma infiziert gefunden: diese Infektion konnte also nicht per os eingetreten sein. Zum anderen besaßen die Larven tatsächlich die Fähigkeit, sich in die Haut einzubohren; die Gelegenheit dazu hatten sie während meines Arbeitens mit ihnen reichlich gehabt, und meine eigene Erkrankung wurde nur erklärlich, gleichzeitig aber auch sofort erklärlich durch die Annahme, daß diese Larven zum Darme zu gelangen vermöchten. In beiden Tatsachen können Pieri und Grassi keine hinreichende Begründung für meine „Hypothese“ erblicken. Ebenso wenig kann nach ihrer Ansicht die Infektion meiner Person mit dem Parasiten einen ernsthaften Wert als Beweis beanspruchen angesichts „der großen Schwierigkeit, sich von einer Infektion frei zu erhalten, sobald man mit einem ähnlichen Kulturmateriale arbeite“. „A questa possibilità di infezione involontaria per via orale durante le esperienze, aggiungasi nel caso del Looss anche il coefficiente importantissimo della grande facilità di assumere l’infezione con altri mezzi in un paese, come il Cairo, in cui l’anchilostomiasi è endemica.“ Meine wiederholte und ausdrückliche Versicherung, daß meine eigene Infektion in ihrem tatsächlichen Umfange keineswegs per os stattgefunden haben konnte, findet demnach bei Grassi und Pieri keine Beachtung und dies scheint nur die Deutung zuzulassen, daß ich ihrer Ansicht nach nicht genügend wissenschaftliche Kritik besitze, um bei meinen Versuchen etc. Ursache, Wirkung und zufällige Begleiterscheinungen voneinander unterscheiden zu können. Ich will dem gegenüber konstatieren, daß diese Ansicht irrig ist. Irrig ist auch die weitere Ansicht von Grassi und Pieri, daß in Kairo die Ankylostomiasis „endemisch“ sei, denn die Autoren verwechseln hier das Land Egypten mit der Stadt Kairo. In letzterer ist die Ankylostomiasis vielmehr genau so endemisch, wie z. B. die Malaria in der Stadt Rom; um mich deutlicher auszudrücken heißt das, die sporadischen Fälle, die bei Gelegenheit anderer Leiden ab und zu in der Stadt zur Beobachtung kommen, sind vom Lande eingeschleppt. Innerhalb der 6 Jahre meines Aufenthaltes in Kairo habe ich ferner noch von keinem einen Europäer betreffenden Fall gehört (den meinigen natürlich ausgenommen)[1].

Alles in allem hält demnach Pieri das von mir behauptete Phänomen seiner Ungewöhnlichkeit halber für sehr unwahrscheinlich (da ich dies selbst gewußt und bereits genügend betont habe, so kann ich nicht annehmen, daß Pieri hiermit etwas Neues sagen will; ich allerdings stehe mit Leuckart auf dem Standpunkte, daß „wo die Beobachtungen sprechen, die Bedenken schweigen müssen“). Da fernerhin nach Pieris Ansicht mein Versuch noch weit davon entfernt ist, den positiven Beweis für meine „Hypothese“ zu erbringen, so unternimmt er auf Anraten und mit Unterstützung Prof. Grassis „uno studio scrupoloso della questione“.

ihnen Neues vorbringt oder nur Altes wiederholt, vermag ich nicht zu sagen, da ich beide Publikationen noch nicht habe einsehen können.

1) Diese Tatsache spricht um so weniger zu Gunsten der Annahme von einer allgemeineren Verbreitung der Krankheit durch das Trinkwasser, Vegetabilien u. s. w., als die reifen Ankylostomalarven, wie Versuche ergeben haben, durch die üblichen Sandfilter mit überraschender Geschwindigkeit hindurchgehen, und das selbst dann, wenn man das Wasser im Filter nicht ablaufen, sondern stehen läßt.

Nachdem er sich ein genügendes Material reifer, übertragungsfähiger Larven gezüchtet hat, bringt er 6 Tropfen Wassers, die „parecchie migliaia di larve“ enthalten, auf seine Hand, und nachdem diese getrocknet sind, noch zwei weitere. Dr. G. Noè, der sich zu einem Kontrollexperiment erboten hat, erhält 3 Tropfen auf die Haut der Hand, die „qualche migliaio“ Larven enthalten; 3 Tropfen erhält schließlich auch Prof. Grassi. Während Pieri und Noè sie trocknen lassen, wie ich es bei meinen Versuchen getan, wird von Grassi berichtet, daß er sie „spalmò largamente sulla superficie dell' avambraccio;“ er scheint sich dem Experimente demnach nur mit Vorsicht unterzogen zu haben. So blieben denn auch bei ihm die durch das massenhafte Eindringen der Larven verursachten Reizerscheinungen aus, die sich bei Noè und besonders stark bei Pieri geltend machten, welcher letzterer bekanntlich eine sehr beträchtliche Zahl von Larven auf seine Hand appliziert hatte. Ungefähr $2^1/_2$ Monate nach diesem Experimente findet Pieri in seinen Stühlen einige wenige Ankylostomaeier und auf eine anthelminthische Kur hin gehen 7 Würmer ab; die Stühle der beiden anderen Herren, die an dem Versuche teilgenommen hatten, enthielten zu derselben Zeit keine Eier.

Dies das tatsächliche Resultat von dem Experimente Pieri's; streng genommen wird man dieses Resultat nicht von vornherein als vollkommen negativ bezeichnen können, denn bei Pieri war ja eine Infektion eingetreten. Es kommt also hier alles darauf an, wie Pieri seine Infektion erklärt; diese Erklärung aber muß ich nach eingehender Prüfung als eine so subjektive und anfechtbare bezeichnen, daß sie nur zu einem besonderen Zwecke adoptiert sein kann; dieser Zweck scheint angedeutet in einem der Schlußsätze des Artikels, in dem es heißt: Rimarrebbe perciò stabilito che l'unica via di infezione seguita dalle larve dell'*Anchilostoma* è la via orale, come per il primo constatò il Grassi insieme coi Parona.

Das Auftreten der Parasiten in seinem eigenen Organismus schreibt Pieri dem zufälligen Verschlucken einiger Larven während des Experimentierens zu; er hat den Versuch auf andere, dem gleichen Zufall nicht ausgesetzte Personen hauptsächlich deshalb ausgedehnt, um hierin ein Mittel zu finden, wirklich durch die Haut eingedrungene Ankylostomen von zufällig durch den Mund erworbenen zu unterscheiden. „Se l'infezione si fosse sviluppata anche nei compagni di esperienza, l'ipotesi del Looss avrebbe avuto una conferma molto importante, se non assoluta.“ Dieser Satz ist unzweifelhaft richtig, was aber bei weitem nicht involviert, daß er auch umgekehrt gilt, d. h. negative Beweiskraft besitzt. Ein positives Versuchsergebnis hat (nachdem die möglichen Fehlerquellen sorgfältig ausgeschieden sind), eben weil es positiv ist, absolut beweisende Kraft, ein negatives Ergebnis dagegen noch lange nicht, weil das Ausbleiben des Erfolges auch von Zufälligkeiten abhängen kann; es dürfte überflüssig sein, auf diese selbstverständlichen Dinge noch weiter einzugehen. In der Grassi-Pierischen Erklärung ihres Versuchsresultates vermisse ich ferner jedwede Würdigung der doch recht wichtigen Tatsache, daß nicht einmal die Infektionsbedingungen für alle 3 Teilnehmer die gleichen waren. Denn Pieri hat bekanntlich sich selbst beinahe 3mal so stark infiziert als seine beiden Genossen, ein Faktor, der bei der Beurteilung des schließlichen Ergebnisses keinesfalls ganz außer Betracht bleiben durfte, es anscheinend aber trotzdem geblieben ist.

Dafür nun, daß in dem Falle von Pieri die Infektion nicht durch die Haut stattgefunden haben konnte, finden Grassi und Pieri „tre importantissime prove“ darin, daß 1) bei den beiden Teilnehmern an dem Versuche eine Infektion nicht eingetreten war, daß 2) die Zahl der von Pieri beherbergten und später abgetriebenen Würmer nur minimal war im Verhältnis zu der Zahl der eingedrungenen Larven, und daß 3) die Eier ungleich viel später auftraten, als man hätte erwarten sollen, wenn sie wirklich von den auf die Haut applizierten Larven herstammten.

Es ist nun meines Erachtens kein Zeichen für eine Objektivität der Grassi-Pierischen Erklärung ihres Versuchsergebnisses, daß die drei aufgeführten „importantissime prove“, die gegen meine „Hypothese“ sprechen sollen, in ungezwungenster Weise erklärt werden können, gerade wenn man annimmt, daß die von Pieri beherbergten Würmer wirklich von dem Experimente herrührten. Angesichts der bestimmten Form, in welcher ich meine „Hypothese“ vorgebracht, hätte eine objektive Prüfung ihrer Richtigkeit auch diese Möglichkeit nicht wohl ganz ignorieren dürfen. Grassi und Pieri hingegen rechnen ihr Exempel aus, ohne eine „Gegenprobe“ auch nur zu versuchen; zu meinem Bedauern bin ich nicht in der Lage, solche Untersuchungen wissenschaftlich objektiv und gewissenhaft zu nennen. Und dabei handelt es sich um die Erkenntnis eines natürlichen Vorganges, dessen weittragende Bedeutung für die Hygiene ganzer Länder Grassi und Pieri soll erkennen. „Certamente le conclusioni del Looss qualora fossero state confermate dai fatti, avrebbero avuto una importanza e una portata molto maggiore di quella di una semplice osservazione scientifica; esse avrebbero fatto risorgere straordinariamente complicato il problema della protezione contro la fotale Anchilostomiasi.“ Wäre es unter diesen Umständen nicht angebracht gewesen, meine Behauptung doppelt ernsthaft auf ihre Richtigkeit zu prüfen, ehe man sie als unbegründet zurückwies? Von meinem Standpunkte aus erklären sich die 3 Gründe Pieris in folgender Weise:

Ad 1. Der Nachweis, daß die beiden Versuchsteilnehmer wirklich nicht infiziert wurden, ist von Grassi-Pieri noch gar nicht erbracht. Letzterer konstatiert die Anwesenheit der Eier in seinem Stuhle am 13. Februar, findet aber zu der gleichen Zeit die Stühle seiner Genossen von Eiern frei. Das Resultat des Versuches wird von Grassi bereits am 2. März in einer Sitzung der Akademie vorgetragen; allem Anscheine nach fanden demnach nach der ersten, für die Stellungnahme Grassi-Pieris entscheidenden Untersuchung keine weiteren Stuhluntersuchungen statt. Nun hat Pieri sich selbst bei weitem stärker infiziert als die beiden anderen Herren; es war deshalb vorauszusehen, daß bei ihm auch zuerst die Eier der Würmer in größerer Zahl auftreten und in den Faeces leichter nachweisbar sein würden. Um es tatsächlieh sicherzustellen, daß bei Grassi und Noè eine Infektion nicht eingetreten war, hätten darum die Untersuchungen noch mindestens für einige Wochen fortgesetzt werden müssen, und selbst wenn dann ein positives Ergebnis ausblieb, wäre die Frage noch nicht in bestimmtem Sinne entschieden gewesen, da an dem negativen oder anscheinend negativen Ergebnis auch die bedeutend schwächere Infektion Noès und ganz besonders Grassis schuld sein konnte. Im Uebrigen trage ich nicht das mindeste Bedenken zu behaupten, daß nicht nur Pieri zur Zeit noch (nach seiner Auffassung: wieder) infiziert ist, sondern daß auch Noè Ankylostomen in seinem Innern beherbergt; betreffs Grassis enthalte

ich mich eines Urteils, da derselbe, wie schon erwähnt, das Experiment an sich augenscheinlich nur vorsichtig hat vollziehen lassen.

Ad 2. Die geringe Zahl der erwachsenen Würmer, welche bei Pieri durch die Abtreibungskur zu Tage gefördert wurden, erklärt sich zu einem Teile aus dem eben erwähnten Umstande, daß der Versuch nicht vorurteilsfrei und gewissenhaft bis zu Ende geführt wurde. Die durch die Haut eindringenden Larven haben, was ohne weiteres einzusehen ist, von vornherein keinen so natürlichen und fest vorgeschriebenen Weg vor sich, um zu ihrem Ziele zu gelangen, wie die durch den Mund eintretenden, und sie werden deshalb nur allmählich und einzeln im Darme anlangen. Dies dürfte in hervorragendem Maße von unserem speziellen Falle gelten, denn der Weg von der Hand bis zum Darme ist ein relativ außerordentlich langer, und sehr vielen Larven gelingt es, wie in anderen ähnlichen Fällen, wahrscheinlich überhaupt nie, ihn mit Erfolg bis zu Ende zurückzulegen. Andere erreichen ihr Ziel, je nach den Umständen aber nach sehr verschieden langer Zeit. Eine gleichzeitige Infektion der Hand braucht demnach nicht, oder kann nach Lage der Dinge gar nicht zu einer ebenso gleichzeitigen Infektion des Darmes führen. So hat Pieri in seinem Falle nun die ersten in seinem Darme angekommenen Würmer abgefaßt; mit den übrigen wird er, meinen bisherigen Erfahrungen nach, wenn er nicht besonderes Glück hat, noch seine 4—5 Jahre zu kämpfen haben. Daß

Ad 3. endlich die Eier erst so lange nach der Infektion auftraten, erklärt sich ebenfalls zwanglos aus dem langen und mehr oder minder von Zufälligkeiten abhängigen Wege, den die Larven im Körper zurücklegen müssen. Denn es ist allem Anscheine nach ausschließlich erst der Darm, in welchem sie ihr eigentliches Wachstum beginnen und ihre Entwickelung zur Geschlechtsreife durchlaufen können. Ich erinnere hier an die von mir früher gemachte Beobachtung, daß Larven von *A. duodenale*, die 14 Tage im Trachealepithel von Meerschweinchen umhergewandert, noch vollkommen agil, dabei aber kaum merklich gewachsen waren.

Ich kann in der Art und Weise, wie ich Grassis und Pieris „importantissime prove“ hier in meinem Sinne ausgelegt habe, keinen logischen Fehler auffinden. Lassen diese „prove“ eine solche Deutung aber ungezwungen zu, so können sie auch keine objektiv stichhaltigen Beweise gegen meine „Hypothese“ sein. Noch subjektiver und gleichzeitig mehr unmöglich als unwahrscheinlich ist Grassis und Pieris Annahme, daß die Infektion Pieris von zufällig durch den Mund aufgenommenen Larven herrühre. Durch Leichtensterns und meine Versuche ist festgestellt worden, daß zwischen der Einführung der jungen Larven in den Darm und dem Erscheinen der ersten Eier in den Faeces der Ankylostomaträger ca. 5 Wochen vergehen. Pieri beginnt seine Experimente mit den Larven im letzten Drittel des November, infiziert sich zufällig (seiner Auffassung nach) aber erst gegen Mitte Januar; da eine derartige Infektion „per mera casualità“, wie er selbst hervorhebt, „può verificarsi colla massima facilità,“ so ist nicht recht ersichtlich, warum dieselbe für die ersten 5 Wochen ausbleibt und dann plötzlich mit 7 Würmern auf einmal einsetzt. Indessen ist dies immerhin möglich; völlig unklar bleibt mir dagegen, wie Grassi und Pieri diese zufällige Infektion per via orale sich zustande kommend denken, nachdem Pieri die Tatsache bestätigt hat, daß die Ankylostomalarven während der Zeit, die ein

Wassertropfen zum Eintrocknen braucht, sich in die Haut einbohren Da absolut nicht anzunehmen ist, daß absichtlich auf die Haut gebrachte Larven sich in dieser Hinsicht abweichend verhalten von zufällig auf die Haut z. B. der Hände gelangenden, so folgt, daß auch letztere so bald als möglich einzudringen suchen werden. Daran sind sie nur zu verhindern durch sofortiges Abwischen der Hände oder Waschen derselben in Alkohol etc. Um demnach die Larven (zufällig oder absichtlich), noch ehe sie in der Haut verschwunden sind, verschlucken zu können, müßte Pieri die soeben kontaminierten und noch feuchten Hände zu Munde geführt haben; dies kann ich indessen kaum annehmen. Läßt er dagegen die mit larvenhaltigem Wasser benetzten Hände langsam trocknen, dann wandern die Larven in die Haut ein, und diejenigen, denen dies nicht gelingt, vertrocknen auf der Außenfläche und fallen damit dem Untergange anheim.

Nun verficht allerdings Pieri die Austrocknungsfähigkeit der Larven, und solchen ausgetrockneten scheint er die Hauptrolle bei dem Zustandekommen der von ihm angenommenen zufälligen Infektion durch den Mund zuzuschreiben. Bei einigen Versuchen glaubt er gefunden zu haben, daß die jungen Ankylostomalarven „poste in condizioni di siccità quasi assoluta“ eine Maximalresistenz von 6—7 Tagen besitzen. Ich muß dem auf Grund nochmals angestellter, vielfach modifizierter Versuche auf das entschiedenste widersprechen; die Larven können einer vollkommenen Austrocknung auch nicht eine Sekunde widerstehen, sterben vielmehr stets schon ab, ehe sie völlig trocken geworden sind. Ich habe letztere Tatsache durch wiederholte Verfolgung des Austrocknungsprozesses unter dem Mikroskope festgestellt. Es hat sich gezeigt, daß die Larven sich selbst auf einer trocken werdenden Unterlage (auf der sie dann festkleben) noch so lange am Leben erhalten können, als die sie umgebende Larvenhaut (die „Cyste“) die Feuchtigkeit im Inneren zurückhält. Sobald letztere zu verdunsten anfängt, tritt Schrumpfung des Körpers (besonders in der Längsrichtung) ein. Fügt man, bevor diese Schrumpfung bis zu einer Verkürzung auf ungefähr $^{3}/_{4}$ der ursprünglichen Körperlänge gediehen ist, wieder Wasser zu, so schnellen die Würmer fast momentan zur Norm zurück und bewegen sich eiligst davon. Geht dagegen die Schrumpfung über ein gewisses, schwer zu beschreibendes Maß hinaus, oder ist auch nur ein kleiner Teil des Leibes stärker zusammengefallen, dann erfolgt nach Wasserzusatz wohl ein allmähliches Aufquellen zu der ursprünglichen Gestalt, die Tiere machen mit dem lebendig gebliebenen Teile ihres Körpers wohl auch noch schwache Bewegungen, sterben nach längerer oder kürzerer Zeit aber ohne Ausnahme ab, und das ohne vorher schon vollkommen ausgetrocknet gewesen zu sein. Vollkommene Austrocknung ist stets auch vollkommener Tod. Ich habe dies neben wiederholten absichtlichen Versuchen im großen und im kleinen in einem Falle auch zu meinem ganz besonderen Leidwesen konstatieren müssen. Eine fast mein gesamtes Material enthaltende Tierkohlenkultur von Larven des *Ankylostomum caninum* (Erc.) war zufällig unbedeckt stehen geblieben und über Nacht ausgetrocknet; an der Farbe der Masse ließ sich erkennen, daß sie nicht vollkommen lufttrocken war, sondern noch Feuchtigkeit enthielt. Trotzdem erwiesen sich die in den oberflächlichen Lagen der Masse enthaltenen Larven bei mikroskopischer Untersuchung nach Wasserzusatz sämtlich als vollkommen tot. In der Annahme, daß vielleicht die tieferen, geschützten Schichten noch lebende

Larven enthalten könnten, versuchte ich diese mit Wasser auszuziehen. Letzteres enthielt nach dem Abgießen auch Tausende von ihnen, aber alle tot und starr; ich ließ sie 24 Stunden stehen, um zu sehen, ob einige sich vielleicht erholen würden, aber jede Hoffnung war vergebens, nicht eine einzige noch lebende befand sich unter ihnen und mein ganzes kostbares Material war verloren.

Ich weiß nicht, was Pieri mit einer „siccità quasi assoluta" meint; soll damit gesagt sein, daß die Ankylostomalarven außerhalb einer wenn auch noch so spärlichen, aber tropfbar flüssigen Umgebung auch nur länger als Sekunden oder (bei sehr feuchter Luft) Minuten sich lebend zu erhalten vermögen, so muß ich dem entschieden widersprechen. Behauptet Pieri, daß die Larven einer „fast absoluten Austrocknung" bis zu 6 und 7 Tagen widerstehen können, so läßt diese Behauptung für mich nur 2 Möglichkeiten zu ihrer Erklärung offen: entweder verhalten sich die Ankylostomalarven in Italien anders als in Aegypten, oder die Beobachtungen Pieris entbehren der nötigen Gründlichkeit und Gewissenhaftigkeit[1]). Die erstere Möglichkeit halte ich für ausgeschlossen.

Fasse ich demnach mein theoretisches Urteil über Grassi-Pieris „studio scrupoloso della questione" zusammen, so kann ich absolut nicht anerkennen, daß die Autoren das erreicht haben, was sie offenbar zu erreichen strebten. Der von ihnen angestellte Versuch und seine Ergebnisse sprechen nicht nur nicht entscheidend gegen meine „Hypothese", sondern sie lassen sich natürlich und ungezwungen sogar im Sinne dieser „Hypothese" auslegen.

Angesichts des mannigfachen Widerspruches oder wenigstens Zweifels, welchen meine Angaben hervorgerufen, und nicht zum Mindesten auch angesichts des von Pieri und Grassi scheinbar erfolgreich geführten Gegenbeweises mußte ich mich entschließen, ein zweites Experiment am Menschen in Betracht zu ziehen. Ich selbst war dazu ungeeignet, da die Folgen meiner ersten Infektion immer noch nicht gänzlich erloschen sind. Betreffs jeder anderen Versuchsperson war zunächst und vor allem im Auge zu behalten, daß dieselbe während der

1) Auch in anderer Hinsicht ist die Darstellung Pieris ungenau. So soll ich die Larven „specialmente nei follicoli dei peli, raramente nei canali ghiandolari" eingedrungen gefunden haben. Das stimmt nicht; ich habe vielmehr konstatiert, daß nicht in einem einzigen Drüsenkanale eine Larve angetroffen wurde. Ich kann ferner nicht umhin, zu bemerken, daß Pieri meinen Namen in seinem Artikel zwar 12 Mal erwähnt, aber nicht einziges Mal richtig schreibt. Ich meine, daß ein gewissenhafter Forscher auch den Namen seiner Kollegen und der Schreibweise dieser Namen (ganz abgesehen von den praktischen Schwierigkeiten, die aus einer falschen Orthographie entstehen können) eine gewisse Achtung schuldig sei. Was bei einer derart oberflächlichen Behandlung von Autorennamen gelegentlich herauskommt, zeigt ein Beispiel aus der neuen Auflage von Perroncitos: I parassiti dell' uomo e degli animali utili (Milano, Casa editrice Dottor Franceso Vallardi; Jahreszahl fehlt). Daselbst wird auf Seite 343 darauf Bezug genommen, daß ich *Distomum heterophyes* in Egypten wieder aufgefunden habe; mein Name ist „Loos" geschrieben. In dem Kapitel über die Malariaparasiten werden auf pag. 113, 114 und 115 die Resultate der grundlegenden Arbeiten von Ross erwähnt, nur in der Fußnote auf Seite 115 ist aber der Name auch richtig „Ross" geschrieben. Im Texte findet sich auf Seite 114 und 115 anstatt dessen „Loss" und auf Seite 113 sogar „Loos". Im Inhaltsverzeichnis schließlich wird bei dem Namen „Loos" sowohl auf die Seiten 113—115 wie auf Seite 343 verwiesen. Wohin soll ein derartiges Umspringen mit Eigennamen schließlich führen? Es ist gewiss entschuldbar, wenn hier oder da ein Druckfehler auch in dem Namen eines Autors übersehen wird und stehen bleibt; die achtlose Behandlung von Autorennamen sollte aber nicht zur Gewohnheit ausarten.

Dauer des Versuches ständig soweit unter Kontrolle gehalten werden konnte, um eine zufällige Infektion auszuschließen, so unwahrscheinlich eine solche innerhalb der Stadt Kairo von vornherein auch war. Mit der freundlichen Hilfe von Dr. Sandwith gelang es bald, einen Krankenwärter des Hospitales ausfindig zu machen, der gegen das Versprechen eines Bakschisches bereit war, sich dem Versuche zu unterwerfen. Mohamed Imām, 26 Jahre alt, ist seit 6 Jahren Krankenwärter in der inneren Abteilung von Kasr el Aïni und hat während dieser Zeit die Stadt nicht verlassen. Er hat reichlich mit Ankylostomakranken zu tun gehabt; sein Stuhl erweist sich bei der Untersuchung frei von Ankylostomaeiern. Dagegen finden sich einige wenige Larven von *Strongyloides intestinalis* (Bavay), ein Umstand, der mir in gewisser Hinsicht sehr ungelegen kam, da er, wie sich nachher zeigen wird, die Ausführung eines ursprünglichen Planes zu einem Teile unmöglich machte. Innerhalb der folgenden 4 Wochen wurden die Stühle noch 3mal untersucht und zwar stets mit dem gleichen Resultate; darauf wurde am 15. September das Experiment in derselben Weise vorgenommen wie früher. Zwei Tropfen stark larvenhaltigen Wassers wurden auf eine, zwei weitere auf eine andere Stelle des linken Unterarmes in der Nähe des Handgelenkes aufgetropft und leicht ausgebreitet, um sie schneller trocknen zu lassen. Die bereits beschriebenen Reizerscheinungen stellten sich nach kurzer Zeit ein; am folgenden Tage zeigte sich eine deutliche Schwellung der infizierten Stellen, die sich im Verlaufe der nächsten Tage (nach der Aussage der Versuchsperson zugleich mit dem juckenden Gefühle) über den ganzen Arm bis gegen die Schulter hin ausbreitete, um nach ungefähr einer Woche wieder abzunehmen und schließlich ganz zu verschwinden. Von da ab gab der Mann, nach seinem Befinden befragt, stets sehr zufriedene Antworten.

Die Untersuchung der Stühle wurde 4 Wochen nach dem Experimente begonnen und wöchentlich 1-, nur ausnahmsweise 2-mal vorgenommen. Die *Strongyloides*-Larven fanden sich dabei immer in ungefähr der gleichen Menge vor; die ersten Ankylostomaeier dagegen gelangten erst am 25. November zur Beobachtung. Es war von vornherein selbstverständlich, daß sie anfangs nur ganz spärlich auftreten und deshalb durch die mikroskopische Untersuchung nur bei einem günstigen Zufalle nachweisbar sein würden. Um sicher zu gehen, hatte ich mir darum ursprünglich vorgenommen, die Stühle im Anfang nicht mikroskopisch zu untersuchen, sondern mit Tierkohle zu kultivieren, und die aus etwa vorhandenen Eiern sich entwickelnden Larven mit Wasser auszuziehen und zu sammeln. Auf diese Weise hätten sie sich bereits nachweisen lassen, wenn in einem Stuhlgange auch nur etwa erst ein Dutzend Eier vorhanden gewesen wäre. Leider machte die Anwesenheit von *Strongyloides intestinalis* diesen Plan zu nichte, da der Wurm ebenfalls im Kote Larven entwickelt und so in der Tat die einzige Form war, die ich für meine Zwecke nicht brauchen konnte. So war ich betreffs des Nachweises der Eier auf die mikroskopische Untersuchung der Faeces angewiesen, auf die gleiche Methode also, die auch Pieri für den Nachweis der Eier anwandte. Dieselbe ergab, wie schon gesagt, am 25. November das Vorhandensein der ersten Eier, und zwar fanden sich hier durchschnittlich 2 Eier in einer Kotmasse, die reichlich mit Wasser diluiert, unter einem Deckglase von der Größe eines Gießener Objektträgers Platz hat. In den folgenden Wochen nahm

diese Zahl der Eier allmählich zu, so daß gegenwärtig (Mitte Januar) sich durchschnittlich 12 Eier an Stelle der früheren zwei finden.

Das Ueberraschendste an diesem Resultate meines Versuches ist nun die Länge der zwischen der Infektion und der Auffindung der ersten Eier in den Stühlen verstrichenen Zeit, die mit 71 Tagen genau mit der von Pieri in seinem Versuche beobachteten (4. Dez. 1901 bis 13. Febr. 1902) zusammenfällt. Da wir beide nach demselben Prinzipe gearbeitet haben, insofern in beiden Fällen eine relativ ansehnliche Zahl von Larven auf die Hand oder in die unmittelbare Nähe derselben appliziert worden war, und in beiden Fällen die Eier durch mikroskopische Untersuchung der Stühle festgestellt werden mußten, so kann die erwähnte Uebereinstimmung in der Zeit unmöglich als ein Zufall erscheinen, wenn auch die Coincidenz gerade bis auf den Tag sicher ein solcher ist. In meinem Falle müssen ferner die Eier von der Infektion durch die Haut herstammen. Meine Versuchsperson ist mit Ausnahme des 15. September niemals mit reifen Ankylostomalarven in Berührung gekommen und hat während der ganzen Dauer des Experimentes im Hospital resp. in der Stadt gelebt. In beiden hat der Mann sich während seiner 6 Dienstjahre nicht mit dem Parasiten infiziert und es liegt demnach nicht der mindeste Grund für die Annahme vor, daß er gerade während des Versuches zufällig anderweit infiziert worden sein sollte. Eine derartige Annahme würde weiterhin geradezu absurd erscheinen, wenn man sich überlegt, daß diese zufällige Infektion genau ebenso lange nach der Applikation der Larven auf seine Haut erfolgt sein müßte, wie die von Pieri angenommene zufällige Infektion seiner eigenen Person nach der Applikation der Larven auf seine Haut. Das ist undenkbar, und deshalb würde die von Pieri für seine Infektion angenommene Erkläruug, auf meinen Fall angewandt, im höchsten Grade unwahrscheinlich werden, wenn sie es in Anbetracht der weiter oben angedeuteten Art und Weise, wie diese zufällige Selbstinfektion erfolgt sein müßte, nicht bereits wäre. In Wirklichkeit stammen auch die von Pieri in seinen Stühlen aufgefundenen Eier und die später abgetriebenen Würmer von den in seine Haut eingedrungenen Larven her; hätte er seine Untersuchungen nicht vorzeitig abgebrochen, sondern objektiv und gewissenhaft noch für einige Wochen fortgesetzt, so würde er auch bei den Teilnehmern an seinem Experimente (zum wenigsten bei Noè) die Ankylostomaeier und damit die „conferma molto impertante, se non assoluta“ für die „ipotesi del Looss“ gefunden haben (für die es im übrigen, meiner Ueberzeugung nach, auch jetzt noch nicht zu spät ist).

Zur Erforschung des Weges, auf welchem die Ankylostomalarven von der Haut aus zum Darme gelangen, ist das Experiment am Tiere unentbehrlich. Ich hatte mich deshalb schon seit langem bemüht, *Ankylostomum caninum* (Esc.), das ich vor einigen Jahren bereits auf dem Wege durch den Magen gezüchtet, lebend wieder zu erhalten, jedoch immer ohne Erfolg. Anfang des Sommers fand ich schließlich ungefähr ein Dutzend Exemplare des Wurmes in einem jungen Fenek *(Megalotis cerdo)*, der mir noch vor der Untersuchung seines Kotes auf Eier gestorben war. Die aus den im Darme vorhandenen Eiern der Würmer gezüchteten Larven wurden accumulativ zuerst auf Katzen, und als diese keine ausgiebigen Resultate ergaben, auf Hunde übertragen, um damit ständige Materiallieferanten zu schaffen. Mehrere Versuchstiere gingen mir dabei infolge gleichzeitiger Verabreichung allzu zahl-

reicher Larven ein und zeigten bei der Autopsie das bereits früher beschriebene Bild einer, wie ich es nennen möchte, akuten Ankylostomasis.

Ein erster, vorbereitender Versuch sollte die von vornherein so gut wie sichere Tatsache feststellen, daß auch das Hunde-Ankylostoma von der Haut aus nach dem Darme zu gelangen vermag, nahm aber einen ziemlich unerwarteten Verlauf. Als Objekt diente ein junger, circa 3 Monate alter Hund aus einem Wurfe von 3 Stück, die ungefähr 5 Wochen lang mit den infizierten zusammen gelebt hatten; eine Untersuchung seines Kotes ergab das Fehlen jeglicher Parasiteneier. Der Versuch selbst wurde etwas modifiziert. Ich habe schon früher meine Ansicht dahin ausgesprochen, daß es, zunächst für Aegypten, mutatis mutandis aber auch für die übrigen Ankylostomaländer, nicht das Wasser ist, welches die Ankylostomainfektion durch die Haut vermittelt, sondern auch der Bodensatz, der nach Rückgang resp. Verdunstung des Wassers als Schlamm oder feuchte Erde an die Oberfläche tritt, an den Händen oder bloßen Füßen der Feldarbeiter etc. haften bleibt und damit den in ihm angesammelten Larven gute Gelegenheit bietet, in die Haut einzudringen. Anstatt nun die Larven aus den Kulturen, wie früher, auszuziehen und in Schlamm zu übertragen, verwendete ich in dem in Rede stehenden Versuche direkt die Kotkohlenmasse, in welcher die Larven gezogen worden waren. Auf einer circa 20 qcm großen Stelle seitlich und etwas hinter dem einen Schulterblatt des Hundes wurden mit einer Schere die Haare oberflächlich, d. h. bis ungefähr zur Hälfte ihrer Länge abgeschnitten, die Hautstelle mit einem nassen Wattebausch eingerieben, um eine netzende Oberfläche auf Haut und Haaren herzustellen und dann der Kotkohlenbrei ohne jede Anwendung von Druck in ungefähr 3 mm hoher Schicht aufgetragen. Darüber kam ein Stück angefeuchteten Pergamentpapieres und schließlich wurde der ganze Rumpf so mit einem Tuche umhüllt, daß dem Hunde jede Möglichkeit genommen war, mit der Zunge oder den Füßen die Infektionsmasse zu erreichen. Nach 2 Stunden wurde der Verband wieder abgenommen, die inzwischen etwas trocken gewordene und zum Teil an den Haaren festgeklebte Infektionsmasse entfernt und die infizierte Hautstelle und ihre Umgebung für ca. 1 Minute reichlich mit 96-proz. Alkohol durchtränkt, so daß auf der Haut oder den Haaren etwa noch vorhandene, lebende Larven sicher abgetötet wurden und nicht zu einer Sekundärinfection vom Magen aus Anlaß geben konnten.

Zunächst wurde die abgenommene Kotkohlenmasse einer mikroskopischen Analyse unterworfen; sie ergab eine ganz auffallende Verminderung in der Zahl der Larven; ein Stück von der Größe eines anderen, welches vor dem Versuche ungefähr ein Dutzend Larven enthalten hatte, enthielt jetzt nur noch 2. Ueber den Verbleib der fehlenden Larven ließ das Verhalten des Hundes keinerlei Zweifel; in allmählich immer kürzer werdenden Zwischenräumen beschäftigte er sich damit, die infizierte Hautstelle eifrigst zu kratzen, versuchte auch mit den Zähnen zu ihr zu gelangen, was ihm indessen nicht glückte. Eine Schwellung der Stelle konnte nicht konstatiert werden, dagegen erfolgte kurz nach Abnahme der Infektionsmasse ein stark diarrhoischer Stuhl, während der vorhergehende noch normal gewesen war. Ich behielt den Hund zur Beobachtung noch 3 Stunden im Zimmer, während welcher er fortfuhr, zu kratzen; dann ließ ich ihn zurückbringen. Während der nächstfolgenden Tage spielte er mit seinen Gefährten wie gewöhnlich und machte den Eindruck eines völlig gesunden Tieres. Um so über-

raschter war ich deshalb, als mir am Nachmittag des 9. Tages nach dem Experimente der mit der Wartung der Tiere beauftragte Diener meldete, daß der Hund am Mittag die Aufnahme von Nahrung verweigert habe; als ich ihn einige Stunden später sah, bot er bereits äusserlich unverkennbar das Bild der akuten Ankylostomiasis; am nächsten Morgen, also dem 10. Tage nach der Infektion, war er tot. Bei der sofort vorgenommenen Autopsie wurde zunächst der Infektionsstelle eine besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Das Hautstück wurde ausgeschnitten; abgesehen von absoluter Blutlosigkeit zeigte es nichts abnormes; es wurde dann ausgespannt und so konserviert; einige provisorisch mit der Hand gemachte Querschnitte ließen im Inneren keine Wurmlarven mehr erkennen. Das subkutane Bindegewebe, von leichten Fettansammlungen durchsetzt und absolut blutleer, zeigte bei mikroskopischer Untersuchung unter Pressung ebenfalls keine Larven mehr. Dasselbe ergab sich auch betreffs der unter der infizierten Hautstelle gelegenen Körpermuskulatur, welche so blaß war, daß sie kaum die Intensität der Färbung der normalen menschlichen Haut erreichte.

Die Eröffnung der Brust- und Bauchhöhle zeigte nichts irgendwie überraschendes: sämtliche Organe von anscheinend normaler Struktur, aber durchaus anämisch, die Gefäße des Mesenteriums fast ganz blutleer und nur hier und da auf kurze Strecken mit einem wässerigen, blassen Blute gefüllt. Magen und die ersten 30 cm des dünnen Darmes absolut weiß, desgleichen der Mastdarm und die ca. 70 letzten cm des Dünndarmes, Zwischen cm 30 und cm 50 vom Pylorus aus erscheinen auf der Außenfläche des sonst weißen Darmes vereinzelt dunkel durchscheinende Flecke, die von ca. cm 50 an in einen einzigen, bis ca. 70 cm vor die Valvula hin reichenden zusammenfließen. Auch der Blinddarm läßt dunkel durchscheinende Inhaltsmassen erkennen.

In Anbetracht des charakteristischen Bildes, welches der Darm darbot, beschloß ich, denselben ohne weitere Präparation in toto nach der neuerdings von Pick[1]) angegebenen Methode unter Erhaltung der Farben zu konservieren[2]). Ausgeschlossen wurden nur der Magen und die anschließenden 41 cm des Dünndarmes, die ich öffnete. Die oben beschriebenen dunkel durchscheinenden Flecke rührten von Hämorrhagieen her, in deren jeder eine größere Anzahl (3—5) Würmchen frei in die blutige Schleimmasse eingebettet sich erkennen ließ; ungefähr ebenso zahlreiche Würmchen lagen ausserhalb der Hämorrhagieen. Etwa zwei Dutzend, die ich mikroskopisch untersuchte, konnten die den Uebergang zur definitiven Gestalt vermittelnde letzte Häutung sämtlich erst vor ganz kurzer Zeit durchgemacht haben; 2 oder 3 Exemplare standen noch im 2. Larvenstadium mit provisorischer Mundkapsel. Keiner der Würmer zeigte auch nur eine Spur von Blut in seinem Darme. Das diese Hämorrhogieen tragende Darmstück wurde schließlich ausgespannt und ebenfalls nach Pick konserviert.

Nach Vollendung der Konservierung des übrigen Darmes wurde von dem dunklen Teile ein Stück der Wand ausgeschnitten, um einen Einblick in das Innere zu gewähren; soweit sich erkennen ließ, rührte die dunkle Färbung hier nicht von ausgetretenem Blute, sondern von einer sehr starken und fast ganz gleichmäßigen blutigen Infiltration

1) Pick, L., Ueber die Methoden, anat. Präparate naturgetreu zu konservieren. (Berliner klin. Wochenschr. 1900. No. 41 u. 42.)

2) Aus diesem Grunde konnten oben nur Annäherungsmaße gegeben werden.

der Mucosa dar. Die an der geöffneten Stelle sitzenden Würmer entsprachen in Bezug auf ihr Alter durchaus den weiter vorn angetroffenen und bereits beschriebenen.

Nach dem Gesagten ist kein Zweifel möglich, daß der Hund einer akuten Ankylostomiasis erlegen ist, und es ist ebenso wenig ein Zweifel möglich, daß die Infektion von den auf die Haut applizierten Larven herrührte. Daraus ergiebt sich, daß die Larven von *Ank. caninum* (und die von *A. duodenale* dürften sich hierin kaum anders verhalten) gar nicht in direkten Kontakt mit der Haut zu kommen brauchen, um zu ihrer Wanderung angeregt zu werden. Es genügt, daß sie mit den Faeces, in denen sie sich aus den Eiern entwickelten und in denen sie längere Zeit zu leben vermögen, desgleichen mit Schlamm oder feuchter Erde, auf die nassen Haare ihres Wirtes gelangen, um ihren bisherigen Wohnort alsbald zu verlassen und in die Haut einzudringen.

Auffallend, und nach den Ergebnissen des Versuches am Menschen sogar auf den ersten Blick überraschend, ist bei dem gegenwärtigen Experimente die kurze Zeit, in der die Krankheit zum Ausbruch kam. Diese Zeit ist tatsächlich genau dieselbe, als wenn die Infektion per os stattgefunden hätte[1]). Da in letzterem Falle die Larven direkt nach dem Darme geführt werden und ihre Entwickelung beginnen können, so muß angenommen werden, daß auch in dem ersteren die Larven fast unverzüglich an ihr Ziel gelangen; bei der speziellen Lage der gewählten Infektionsstelle ist dies in der Tat unschwer möglich, da sie nur die Körperwand in gerader Richtung zu durchsetzen brauchen, um sich bereits in der Brust- oder Bauchhöhle zu befinden, von wo aus sie ohne die mindeste Schwierigkeit nach dem Oesophagus oder dem Darme gelangen können. Hier verteilen sich demnach die Larven nicht in dem Maße, wie es bei einer Einwanderung von der Hand aus notwendig eintritt; sie treffen mehr oder minder gleichzeitig an ihrem Bestimmungsorte ein, ihre gefährlichen Wirkungen auf den Organismus summieren sich zu dem bekannten Bilde der akuten Ankylostomiasis. Im übrigen ergiebt auch der vorliegende Versuch, daß die verderbenbringende Wirkung der Würmer offenbar erst mit dem Momente einsetzt, in welchem sie ihre definitive Gestalt annehmen; daß eine blutsaugende Tätigkeit nicht in Frage kommen kann, zeigt das Fehlen jeglichen Blutes im Darmkanal der Würmer, welcher auf diesem Stadium auch der schwarzen Pigmentierung noch völlig entbehrt.

Hiermit verliert der anfangs etwas überraschende Unterschied, der sich in dem Versuche am Menschen und dem am Hunde in Bezug auf die Inkubationsdauer der Krankheit ergeben hatte, sein Auffälliges vollkommen; es zeigt nur, daß die Larven nicht von jeder Stelle der Haut aus gleich schnell nach dem Darme zu gelangen vermögen; zu berücksichtigen bleibt außerdem, daß bei dem Experimente am Hunde die Würmer durch den vorzeitigen Tod des Versuchstieres nicht zur Geschlechtsreife und zur Ablage von Eiern gelangten.

---

1) In meinem ersten Berichte über diesbezügliche Versuche am Hunde (cf. dieses Centralbl. Bd. XXIV. 1898. p. 485), der aus gewissen Gründen aus dem Gedächtnis niedergeschrieben werden mußte, ist mir ein wichtiger Gedächtnisfehler untergelaufen. Ich habe dort die Inkubationsdauer der Krankheit mit 19 Tagen angegeben; durch späteren Vergleich der Notizen hat sich aber herausgestellt, daß die Zahl 19 sich nicht auf die Dauer des Versuches, sondern auf das Monatsdatum bezog; da der betreffende Hund am 9. desselben Monats die Larven in Milch erhalten hatte, so war der exitus auch hier am 10. Tage nach der Infektion erfolgt.

Von weiteren Versuchen will ich hier nur noch einen erwähnen, der bis zu einem gewissen Grade ein Kontrollversuch des eben beschriebene sein sollte und mit den beiden Geschwistern des Hundes angestellt wurde. Diese waren, obwohl gleich alt, doch nicht ganz gleich kräftige Tiere; das eine nicht gerade mangelhaft, aber auch nicht glänzend genährt und anscheinend etwas kränklich; seine Atemzüge klangen oft, als ob er an einem starken Schnupfen litte; der andere ein sehr wohlgenährtes und kräftiges Tier. Ersterer Hund wurde nun von der Haut aus infiziert und zwar in genau derselben Weise, wie oben beschrieben; der andere erhielt zu derselben Zeit in Milch eine Dosis Larven, die meinem Erwarten nach tötlich wirken mußte. Sei es nun, daß diese Larven nicht mehr sämtlich lebenskräftig gewesen waren (sie waren in der Tat schon lange in Wasser gehalten und vor dem Versuche nur flüchtig mit der Lupe inspiziert worden), sei es, daß der Hund in der Tat sehr widerstandskräftig war, kurz, das erwartete tötliche Resultat des Versuches verzögerte sich um 2 Tage, während der durch die Haut infizierte Hund pünktlich in der Nacht vom 9. auf den 10. Versuchstag zu Grunde ging. Etwa 3 Stunden nach dem Auflegen der Infektionsmasse war auch bei ihm eine plötzliche, stark diarrhoische Entleerung erfolgt. Ein Teil der Infektionsmasse, nach der Abnahme in Wasser untersucht, erwies sich von Larven vollkommen frei. Bei der Autopsie wurde der ganze Darm geöffnet und genau durchgesehen; er zeigte diesmal auffallenderweise k e i n e r l e i blutige Infiltration oder Hämorrhagieen, die in positive Beziehung zu den Würmern hätten gebracht werden können. Denn soweit diese im Darme nach hinten reichten, war der Darm durchaus blutleer, sein Inhalt bestand aus einer gallig gefärbten Schleimmasse mit einigen spärlichen Nahrungsresten. In dem nicht von den Würmern bewohnten Endabschnitte des Dünndarmes dagegen fand sich eine stark blutig gefärbte Schleimmasse, die sich nach hinten zu allmählich verfärbte und in der sehr zahlreiche, offenbar dem Entwickelungscyklus eines *Coccidium* angehörige Körperchen enthalten waren. Mit der Gegenwart der Würmer hatte diese Blutmasse offenbar nicht das mindeste zu tun. Dagegen dürfte der Organismus des Hundes, durch die Anwesenheit der Coccidien bereits soweit geschwächt gewesen sein, daß er der Giftwirkung der Würmer erlag, ehe diese zu Hämorrhagieen führte.

Die Ankylostomen waren in ansehnlicher Menge vorhanden; ich habe sie gesammelt, aber noch nicht gezählt. Sie standen sämtlich wiederum ganz im Anfange des definitiven Stadiums und besassen eine Länge von 3—4 mm; einige Dutzende noch im 2. Larvenstadium befindliche waren ebenfalls vorhanden. Damit war der Erfolg dieses Experimentes im wesentlichen der gleiche, wie der des ersten [1]).

---

1) Die Leichtigkeit, mit der diese Infektion in natura stattfinden kann — denn die Wirte brauchen nur in larvenhaltigen Koth, Schlamm, Erde u. s. w. zu treten oder sich darauf zu legen, um den Larven Gelegenheit zur Einwanderung zu geben — läßt darauf schließen, daß sie praktisch in der Tat eine große Bedeutung hat, eine bedeutend größere jedenfalls, als das gelegentliche Verschlucken reifer Larven mit dem Essen oder Trinken. So bin ich unter anderem völlig überzeugt, daß z. B. die großen Verluste, welche unter den jungen, noch saugenden Pelzrobben auf den Pribiloff-Inseln durch eine *Uncinaria* hervorgerufen werden (cf. hierzu besonders: The Fur-Seals and Fur-Seal Islands of the North Pacific Ocean by D. Starr Jordan. Washington 1899. Pars 3. VI. The Causes of Mortality among Seals by Fred. A. Lucas. p. 75 ff.) in Anbetracht der ganzen Verhältnisse nur durch Einwanderung der Larven von der Haut aus vollkommen erklärt werden können. Ich komme hierauf vielleicht bei einer späte-

Ich hatte die Thatsachen, auf Grund deren meine „ipotesi si aveva fatto strada nella mia mente“ nach allen Seiten hin wiederholt und gewissenhaft geprüft, ehe ich meine Behauptung öffentlich aussprach, und ich bin deshalb auch nicht überrascht, daß alle nachträglich angestellten Experimente ihr in jeder Beziehung entsprechen. Es mag sein, daß dem Fernerstehenden das anfangs von mir beigebrachte Tatsachenmaterial, welches für mich vollkommen genügte, zum Beweise meiner Behauptung noch nicht hinreichend erscheinen konnte; so mögen die hier beschriebenen Erfahrungen zu seiner Ergänzung dienen [1]). Ueber die Resultate einiger weiterer Versuche hoffe ich binnen kurzem berichten zu können.

Cairo, Dezember 1902.

---

*Nachdruck verboten.*

# Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Privatdozent Dr. **Oskar Bail,** Assistenten des Institutes.

Mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Litteratur in Böhmen.

## I. Die milzbrandfeindlichen Eigenschaften des Kaninchen- und Hundeserums.

In einer vor längerer Zeit veröffentlichten Arbeit [2]) wurde bereits darauf aufmerksam gemacht, daß die Angabe Buchner's, es werde die bakterienfeindliche Wirkung von Hunde- und Kaninchenserum bei einer Mischung beider zerstört, wenigstens für Milzbrand nicht zutreffe. Im Gegenteil erhalte das sonst für diesen Mikroorganismus unwirksame Hundeserum auf diesem Wege kräftige milzbrandtötende Eigenschaften.

Bei ausgedehnten Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität, die im hiesigen hygienischen Institute angestellt werden, bildete diese Arbeit die Grundlage weiterer Versuche, die sich zunächst mit dem Widerspruche der Serumbaktericidie und der natürlichen Immunität von Hund und Kaninchen befaßten. Die Thatsache, daß ein an sich gegen Milzbrand völlig unwirksames Hundeserum durch kleine Mengen von Kaninchenserum starke milzbrandtötende Eigenschaften erhält, trat in den sehr zahlreichen Versuchen dieser Reihe ausnahmslos hervor, wie aus einigen anzuführenden Tabellen hervorgeht. Die Versuchsanordnung war die übliche nach Buchner. Gerade für Milzbrand sind von verschiedenen Seiten gegen dieselbe Einwände

---

ren Gelegenheit zurück, ebenso wie auf eine Anzahl weiterer praktischer Fragen, welche sich hieran anschließen.

1) Sie wurden vorgetragen am 23. Dezember 1902 in der Section de Pathologie interne, Premier Congrès Egyptien de Médecine. Eine kurze Mitteilung über sie veröffentlichte (mit meiner Eiwilligung) D. Sandwith im Journal of Tropical Medicine. Vol. V. 1902. 15. December. No. 24. p. 380.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. 1900. p. 10 u. 517.

erhoben worden und es läßt sich nicht leugnen, daß die Fadenbildung des Milzbrandbacillus eine gewisse Schwierigkeit darbietet. Dieselbe muß eben mit in den Kauf genommen werden, solange wir keine bessere, für solche Versuche anwendbare Methode haben, als es die Zahlenbestimmung der auf Agarplatten aufgehenden Kolonieen ist. Es dürfte übrigens die Größe dieser möglichen Fehlerquelle wohl überschätzt worden sein; denn die zahlreichen Bestimmungen der Aussaatgröße ergaben immer eine Uebereinstimmung, wie sie bei derartigen Versuchen nur sein kann. Der verwendete Milzbrandstamm, der von Herrn Prof. Sobernheim in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt war, besaß eine hohe Virulenz und tötete mittelgroße Kaninchen bei subkutaner Impfungen in der Regel binnen 48 Stunden. Während der Versuchsdauer machte er mehrfache Tierpassagen durch, so daß keine Aussaat mit Bacillen gemacht wurde, die länger als höchstens 6 Generationen auf künstlichem Nährboden gewachsen waren. Zur Aussaat wurden Bouillonkulturen angelegt und diese 12 bis höchstens 14 Stunden bei 37° belassen; dann wurden sie zerschüttelt, noch 2 Stunden in den Brütschrank gestellt, wonach sich eine leicht diffus getrübte Kultur bildet. Schließlich wurden sie durch einen sterilen Trichter gegossen, in dessen Rohr ein kleiner Wattebüschel locker eingeschoben war. Die zu den einzelnen Versuchen verwendeten Serumproben wurden mit 0,8-proz. Kochsalzlösung, welche einen geringen Peptonzusatz erhielt, auf gleiches Volumen gebracht.

Tabelle I.

| | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum | | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum | | 80 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ | | 193 |
| 4) 1 „ „ + 0,01 „ „ | | 2100 |
| 5) 1 „ „ + 0,005 „ „ | | 7360 |
| 6) 1 „ „ + 0,001 „ „ | je 524 | 7200 |
| 7) 1 „ „ + 0,0005 „ „ | | über 10 000 |
| 8) 1 „ NaCl-Lösung + 0,1 „ „ | | 7000 |
| 9) 1 „ „ + 0,05 „ „ | | 9200 |
| 10) 1 „ „ ohne Kaninchenserum | | 2400 |
| 11) 1 „ Kaninchenserum | | 0 |

Die Wirkung des Kaninchenserums ist in diesem Versuche noch bei einem Zusatze von $^1/_{1000}$ ccm zu merken. Das ist die Regel bei kleinen Aussaaten, und bei solchen, die etwa 100 Milzbrandbacillen auf 1 ccm Serum enthalten, kann selbst noch ein Zusatz von 0,0005 ccm Kaninchenserum zu 1 ccm Hundeserum eine aktivierende Wirkung deutlich hervortreten lassen. Bei größeren, die Zahl von 1500 Milzbrandbacillen übersteigenden Einsaaten erlischt im baktericiden Versuche meist schon beim Verhältnis Kaninchenserum : Hundeserum 1 : 100 jede sichtbare Wirkung.

Uebrigens wird man bei Anstellung mehrerer Versuchsreihen oft genug schwankende Resultate bezüglich der Stärke der abtötenden Kraft solcher Serummischungen erhalten. Die Ursache davon scheint weniger in einer Veränderlichkeit des Hundeserums als vielmehr des Kaninchenblutes zu liegen, wie aus der Gegenüberstellung der beiden folgenden Versuche hervorgeht.

Tabelle II.

| | Versuch A | | Versuch B | |
|---|---|---|---|---|
| | Einsaat | nach 4 Stdn. | Einsaat | nach 4 Stdn. |
| 1) 1 ccm Hundeser. | 1070 | über 10 000 | 1128 | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 Kaninchenser. | 1070 | 0 | 1128 | 530 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ | 1070 | 29 | 1128 | 824 |
| 4) 1 „ „ + 0,01 „ | 1070 | 36 | 1128 | 8500 |
| 5) 1 „ NaCl-Lös. + 0,1 „ | 1070 | 2 700 | 1128 | 7300 |
| 6) 1 „ „ + 0,05 „ | 1070 | 11 900 | 1128 | über 10 000 |
| 7) 1 „ Kaninchenserum | 1070 | 0 | 1128 | 21 |

Das im Versuche B erwähnte Kaninchenserum zeigt seine Besonderheit bereits durch seine schwache, absolut tötende Kraft an. Es ist aber auch noch aus einem anderen Grunde wichtig, obwohl es einen Ausnahmefall darstellt.

In der Regel wird nämlich an der Wirkung einer Mischung von Hunde- und Kaninchenserum nicht viel geändert, wenn man das eine oder das andere in der zur Inaktivierung üblichen Weise $^1/_2$—1 Stunde auf 56—58⁰ und auch 60⁰ erhitzt.

Tabelle III.

| | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum | 354 | 5 800 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum | 354 | 1 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ | 354 | 4 |
| 4) 1 „ „ + 0,1 „ „ 1 Std. 56⁰ | 354 | 1 |
| 5) 1 „ „ + 0,05 „ „ 1 „ 56⁰ | 354 | 11 |
| 6) 1 „ NaCl-Lösung + 0,1 „ „ | 354 | 11 800 |
| 7) 1 „ „ + 0,1 „ „ 1 „ 56⁰ | 354 | 12 600 |
| 8) 1 „ Kaninchenserum | 354 | 0 |
| 9) 1 „ „ 1 Std. 56⁰ | 354 | 0 |

Tabelle IV.

| | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum | 480 | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 Kaninchenserum aktiv | 480 | 0 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ | 480 | 0 |
| 4) 1 „ „ + 0,1 „ 1 Std. 60⁰ | 480 | 2 |
| 5) 1 „ „ + 0,05 „ 1 „ 60⁰ | 480 | 203 |
| 6) 1 „ „ 1St. 60⁰ + 0,1 „ aktiv | 480 | 1 |
| 7) 1 „ „ 1 „ 60⁰ + 0,05 „ „ | 480 | 0 |

Anders verhielt sich das Serum des in Tabelle III, Versuch B erwähnten Kaninchens. Bei diesem hatte die 1-stündige Erwärmung auf 56⁰ nicht nur die eigene Baktericidie, sondern auch die Ergänzungsfähigkeit für Hundeserum aufgehoben.

Tabelle V.
Das gleiche Hunde- und Kaninchenserum wie in Tabelle II, Versuch B.

| | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum | 1128 | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum 1 Std. 56⁰ | 1128 | 6900 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ 1 „ 56⁰ | 1128 | } über 10 000 |
| 4) 1 „ „ + 0,01 „ „ 1 „ 56⁰ | 1128 | |
| 5) 1 „ NaCl-Lösung + 0,1 „ „ 1 „ 56⁰ | 1128 | |
| 6) 1 „ Kaninchenserum 1 Std. 56⁰ | 1128 | 3600 |

Oefter kam es vor, daß durch Erhitzung des Kaninchenserums auf 56 und namentlich auf 60° zwar nicht ein vollständiger Verlust, wohl aber eine mehr oder minder starke Herabsetzung der ergänzenden Wirkung auf Hundeserum erzielt wurde.

Tabelle VI.

| | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum aktiv | 224 | über 5000 |
| 2) 1 „ „ „ + 0,1 Kaninchenserum aktiv | 224 | 0 |
| 3) 1 „ „ „ + 0,05 „ „ | 224 | 1 |
| 4) 1 „ „ 1/2 St. 60° + 0,1 „ „ | 224 | 0 |
| 5) 1 „ „ 1/2 „ 60° + 0,05 „ „ | 224 | 8 |
| 6) 1 „ „ aktiv + 0,1 „ 1/2 Std. 60° | 224 | 1800 |
| 7) 1 „ „ „ + 0,05 „ 1/2 „ 60° | 224 | 3000 |
| 8) 1 „ Kaninchenserum aktiv | 224 | 0 |
| 9) 1 „ „ 1/2 Std. 60° | 224 | 4 |

Die meisten Autoren geben an, daß Kaninchenserum durch das in gewöhnlicher Weise erfolgte Erhitzen auf 56—60° nicht unwirksam gegen Milzbrand werde, so zwar, daß sich Wilde[1]) in seiner eingehenden Untersuchung über den Milzbrand sogar dahin ausspricht, es müsse im Kaninchenserum neben dem Alexin im Sinne Buchner's noch ein anderes, nur gegen Milzbrand wirksames Agens vorhanden sein. Im Gegensatze dazu scheint Gengou[2]) durch Erwärmen auf 55° immer fast vollständige Inaktivität erreicht zu haben.

Eigene Versuche, welche mehr als 50 Sera verschiedener Kaninchen umfassen, beweisen, daß zwar die Inaktivierbarkeit durch 56—60° vorkommt, aber nur als Ausnahme gegenüber der Hitzebeständigkeit der milzbrandtötenden Eigenschaft des Kaninchenserums betrachtet werden kann. Möglicherweise liegen hier dieselben Eigentümlichkeiten lokal gezüchteter Tierrassen vor, auf die Morgenroth und Sachs[3]) für hämolytische Verhältnisse bereits aufmerksam gemacht haben. Um Kaninchenserum auch gegen Milzbrand unwirksam zu machen, wendete Wilde[4]) langdauernde Erwärmung auf 56° an. Viel rascher erreicht man dies durch Ersitzen auf 63°, und zwar genügt dann in der Regel bereits eine viertelstündige, sicher eine halbstündige Einwirkung dieser Temperatur. Dadurch geht aber auch die ergänzende Fähigkeit für Hundeserum spurlos verloren (s. Tabelle VII).

Das Ergebnis dieser Versuchsreihen läßt sich dahin zusammenfassen, daß ein an sich gegen Milzbrand völlig unwirksames Hundeserum durch Zusatz geringer Mengen von Kaninchenserum stark abtötende Eigenschaften annimmt. Zwar kann man durch Mischung von 1 ccm reiner physiologischer Kochsalzlösung mit 0,1 ccm Kaninchenserum in vielen Fällen noch eine starke Verminderung eingebrachter Milzbrandbacillen wahrnehmen; es ist aber ohne weiteres klar, daß ein solcher Kontrollversuch seinem Zwecke in keiner Weise entsprechen würde. Denn in reiner NaCl-Lösung stirbt eine geringe Zahl von Milzbrandstäbchen ebenfalls ab, während sie sich im Hundeserum schrankenlos vermehrt. Es muß daher der Nährwert der Kontrolllösung dem des Hundeserums genähert werden, was bei diesen Versuchen durch Zusatz einer so kleinen

1) Wilde, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901.
2) Gengou, O., Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901. p. 68.
3) Morgenroth und Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 27.
4) a. a. O.

Tabelle VII.

| | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum aktiv | 85 im Mittel | 3800 |
| 2) 1 „ „ „ + 0,1 Kaninchenserum aktiv | | 0 |
| 3) 1 „ „ „ + 0,05 „ „ | | 0 |
| 4) 1 „ „ „ + 0,01 „ „ | | 3 |
| 5) 1 „ „ „ + 0,005 „ „ | | 139 |
| 6) 1 „ „ „ + 0,001 „ „ | | 2900 |
| 7) 1 „ „ „ + 0,1 „ 1/4 St. 63° | | 1268 |
| 8) 1 „ „ „ + 0,05 „ 1/4 „ 63° | | 6200 |
| 9) 1 „ „ „ + 0,1 „ 1/2 „ 63° | | |
| 10) 1 „ „ „ + 0,05 „ 1/2 „ 63° | | } über 5000 |
| 11) 1 „ „ 1/4 Std. 63° | | |
| 12) 1 „ „ 1/4 „ 63° + 0,1 ccm Kaninchens.akt. | | 1 |
| 13) 1 „ „ 1/4 „ 63° + 0,05 „ „ „ | | 9 |
| 14) 1 „ „ 1/2 „ 63° | | über 5000 |
| 15) 1 „ „ 1/2 „ 63° + 0,1 ccm Kaninchens.akt. | | 230 |
| 16) 1 „ „ 1/2 „ 63° + 0,01 „ „ „ | | 3360 |
| 17) 1 „ Kaninchenserum aktiv | | 1 |
| 18) 1 „ „ 1/4 St. 63° | | 2900 |
| 19[1]) 1 „ „ 1/2 „ 63° | | über 5000 |

Menge Pepton zur Kochsalzlösung angestrebt wurde, daß eine Gelbfärbung der Flüssigkeit noch nicht wahrnehmbar war. In dieser vermehrte sich der Bacillus noch immer viel weniger als im Hundeserum, und dennoch bewirkte ein Zusatz von 0,1 ccm Kaninchenserum zu 1 ccm nur ganz ausnahmsweise noch Entwickelungshemmung, niemals mehr ein solcher von 0,05 ccm.

Seitdem wir durch die Untersuchungen Ehrlichs und Neissers wissen, daß die Baktericidie normaler Sera wenigstens qualitativ auf die gleiche Weise zustande kommt, wie die Bakteriolyse der Immunsera, macht die Deutung derartiger Befunde keine Schwierigkeit. Es handelt sich um das Zusammentreten zweier Dinge, eines Immunkörpers, welcher bereits im normalen Hunde fertig gebildet ist, und eines Komplements, welches dem Hunde fehlt, im Kaninchenblute aber offenbar reichlich vorhanden ist. Und obzwar die Wertschätzung der Thermostabilität oder Labilität seit der Entdeckung relativ thermostabiler Immunkörper und relativ thermostabiler Komplemente einen argen Stoß erleiden mußte und es für die Inaktivierung ja überhaupt keine scharfe Grenze giebt, findet sich doch eine Andeutung des Schemas: „Immunkörper sind hitzebeständig, Komplemente nicht“ auch hier. Das Hundeserum läßt sich nach 1/4 Stunde Einwirkung von 63° noch ergänzen, das ebenso behandelte Kaninchenserum ergänzt nicht mehr.

Eine weitere Folgerung ergiebt sich unmittelbar: da ein auf 56° erwärmtes Kaninchenserum gegen Typhus, Cholera u. s. w. unwirksam ist, nicht aber gegen Milzbrand, und da ein solches Serum Hundeblut noch zu ergänzen vermag, so müssen im normalen Kaninchenserum zwei Komplemente vorhanden sein, von denen sich das eine, nur durch den Milzbrandversuch nachweisbare, durch eine größere Hitzebeständigkeit von etwa 7—8° auszeichnet[1]). Dabei darf aber nicht angenommen werden, daß im baktericiden Versuche mit reinem Kaninchenserum nur das zweite, hitzebeständige Komplement wirksam sei, und daß nur dieses beim Mischungsversuche mit Hundeserum in Aktion trete. Das beweist zu-

1) Vgl. auch Pettersson, Archiv f. Hyg. Bd. XLIII. p. 70.

nächst Tabelle V, wo ein Kaninchenserum, dem dieses Komplement offenbar fehlte, dennoch ansehnliche Wirkungen im aktiven Zustande entfaltete, ferner die Tatsache, daß oftmals ein auf 56° erhitztes Kaninchenserum Hundeserum schlechter ergänzt als frisches (siehe Tabelle VI und auch Tabelle IV). Beide Kaninchenkomplemente greifen sowohl in den Immunkörper des Hundes wie in den des Kaninchens ein, so daß die baktericide Wirkung eines auf 56° erhitzten Kaninchenserums, selbst dann, wenn sie im Plattenversuche völlige Sterilität erreichen sollte, immer nur ein Rest der ursprünglich vorhandenen sein kann.

Daß die baktericide Wirkung des reinen normalen Kaninchenserums tatsächlich, so wie es die Anschauungsweise Ehrlichs und Neissers erfordert, durch ein Zusammentreten von Immunkörper und Komplement erfolgt, möge der folgende Versuch beweisen, bei dem das gleiche Kaninchenserum, wie im Versuche der Tabelle VII verwendet wurde.

Tabelle VIII.

| | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Kaninchenser. aktiv | 85 im Mittel | 1 |
| 2) 1 „ „ 1/4 St. 63° | | 2900 |
| 3) 1 „ „ 1/4 „ 63° + 0,1 Kaninchenser. akt. | | 192 |
| 4) 1 „ „ 1/4 „ 63° + 0,05 „ „ | | 304 |
| 5) 1 „ „ 1/2 „ 63° | | über 5000 |
| 6) 1 „ „ 1/2 „ 63° + 0,1 „ „ | | 5 |
| 7) 1 „ „ 1/2 „ 63° + 0,05 „ „ | | 400 |
| 8) 1 „ NaCl-Lösung + 0,1 Kaninchenserum aktiv | | 790 |
| 9) 1 „ „ + 0,05 „ „ | | 2100 |
| 10) 1 „ „ | | 1970 |

Es ist bekannt, daß die milzbrandfeindliche Wirkung des Kaninchenserums durch Schwächung, Vergiftung und Infektion der blutliefernden Tiere nur sehr schwer verändert werden kann (Rosatzin, Conradi, Wilde u. A.). Die gleiche Eigentümlichkeit zeigt auch die ergänzende Fähigkeit für Hundeserum. Untersucht wurde dies Verhalten an bereits hochgradig milzbrandigen Kaninchen.

Tabelle IX.

Normales Hundeserum. Serum eines milzbrandigen Kaninchens, das zur Zeit der Blutentnahme bereits reichlich Bacillen im Blute hatte.

| | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeser. | 745 im Mittel | 7360 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum | | 2 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ | | 2 |
| 4) 1 „ „ 1 St. 58° | | 7900 |
| 5) 1 „ „ 1 „ 58° + 0,1 ccm Kaninchenserum | | 4 |
| 6) 1 „ „ 1 „ 58° + 0,05 „ „ | | 0 |
| 7) 1 „ „ aktiv + 0,1 ccm Kaninchenser. 1 Std. 58° | | 1 |
| 8) 1 „ „ „ + 0,05 „ „ 1 „ 58° | | 5 |

Dagegen gelingt es leicht, durch Behandlung des Hundeserums sowohl wie des Kaninchenserums mit Milzbrandbacillen im Reagensglase, die Baktericidie mehr oder minder stark aufzuheben. Zu diesen Versuchen wurden sowohl lebende als durch 63 und 100° abgetötete Bouillon-, später nur Agarkulturen verwendet. Wie schon früher für andere Bakterien gefunden wurde[1]), ist auch beim Milzbrande ein sichtlicher

1) Arch. f. Hyg. Bd. XXXV. p. 284 ff. und Wilde, Habilitationsschrift. p. 12.

Tabelle X.
Serum eines normalen Hundes und eines mit Milzbrand infizierten, bereits sichtlich kranken Kaninchens, dessen Blut 12 Bacillen pro Oese enthält, während das Serum steril ist.

| | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum | 281 im Mittel | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum aktiv | | 0 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ „ | | 0 |
| 4) 1 „ „ + 0,1 „ „ 1/2 St. 60° | | 0 |
| 5) 1 „ „ + 0,05 „ „ 1/2 „ 60° | | 0 |
| 6) 1 „ Kaninchenserum | | 0 |

Unterschied zwischen der absorbierenden Wirkung toter und lebender Bacillen nicht vorhanden.

Die Mengen toter Kultur, welche man zur Beseitigung der Wirkung namentlich von Kaninchenserum braucht, wechseln innerhalb sehr weiter Grenzen, so daß die Angabe bestimmter minimaler Zahlen fast unmöglich wird.

Tabelle XI.
Sera zweier Hunde, für je 1 ccm mit 1/3 toter Agarkultur behandelt.

| | Versuch A | | Versuch B | |
|---|---|---|---|---|
| | Einsaat | nach 4 Stdn. | Einsaat | nach 4 Stdn. |
| 1) 1 ccm Hundeser. akt. | 1120 | über 10 000 | 560 | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ „ + 0,1 Kaninch.-Serum akt. | 1120 | 10 | 560 | 8 |
| 3) 1 „ „ mit Milzbrand behandelt | 1120 | über 10 000 | 560 | über 10 000 |
| 4) 1 „ „ mit Milzbrand behandelt + 0,1 Kan.-S. akt. | 1120 | 12 | 560 | 2480 |

Die gleichen Verschiedenheiten ergeben sich bei Verwendung verschiedener Kaninchensera, so daß zur Erlangung der in den folgenden Versuchen mitzuteilenden Gesetzmäßigkeiten eine unverhältnismäßig große Zahl solcher Absorptionen durchgeführt werden mußten, von denen nur einige sich brauchbar erwiesen.

Offenbar ist der Vorgang bei dem Unwirksamwerden eines Hunde- und eines Kaninchenserums durch Absorption mittels toter Kulturen ein ganz verschiedener, wenngleich er zu dem gleichen Resultate, der Inaktivität einer Mischung beider Sera, führen kann. Beim Hundeserum kann es sich nur um die Bindung eines Immunkörpers handeln, während für das Kaninchenserum dessen Immunkörper samt den beiden Alexinen in Betracht kommen.

Bei der sehr geringen Quantität von Kaninchenserum, die schon hinreicht, um im Hundeserum milzbrandfeindliche Wirkungen zu erzeugen, schien es wahrscheinlich zu sein, daß hier die Komplemente im Ueberschuß vorhanden sein könnten. Danach wäre es nicht ausgeschlossen gewesen, daß einmal die Baktericidie des mit Milzbrand behandelten Serums verschwunden sein könnte bei noch erhaltener Ergänzungsfähigkeit für Hundeserum und weiter, daß es durch Zusatz geringer Mengen von Hundeserum gelingen würde, die Absorption durch Milzbrandbacillen auch in Bezug auf Ergänzungsfähigkeit zu erleichtern.

Im allgemeinen trifft aber die erste Annahme nicht zu; die Er-

gänzungsfähigkeit für Hundeserum schwindet rascher als die bloße milzbrandfeindliche Wirkung des reinen Kaninchenserums.

Tabelle XII.

Kaninchenserum für je 1 ccm mit $^{1}/_{10}$ bezw. $^{1}/_{4}$ toter Agarkultur $^{1}/_{2}$ Stunde bei 37° behandelt, dann abcentrifugiert.

| | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeser. | 776 im Mittel | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenser. akt. | | 0 |
| 3) 1 „ „ + 0,1 „ „ mit $^{1}/_{10}$ Milzbr. behand. | | 504 |
| 4) 1 „ „ + 0,1 „ „ „ $^{1}/_{4}$ „ „ | | 4032 |
| 5) 1 „ Kaninchenserum aktiv | | 0 |
| 6) 1 „ „ mit $^{1}/_{10}$ Milzbrand behandelt | | 18 |
| 7) 1 „ „ „ $^{1}/_{4}$ „ „ | | 83 |

Bei dem Versuche, Mischungen von Hunde- und Kaninchenserum mittels toter Kulturen unwirksam zu machen, ergab sich ein Befund, der wohl nur im Sinne der bekannten Neisser-Wechsbergschen Komplementablenkung zu deuten ist[1]).

Tabelle XIII.

Zu Absorptionsversuchen werden die folgenden Mischungen mit je $^{2}/_{3}$ toter Agarkultur für 1 ccm 1 Stunde bei 37° behandelt und danach die Bacillen abcentrifugiert:

Serum a 2,0 ccm Kaninchenserum
„ b 1,9 „ „ + 0,1 ccm Hundeserum
„ c 1,9 „ „ + 0,1 „ NaCl-Lösung
„ d 1,8 „ „ + 0,2 „ Hundeserum
„ e 1,8 „ „ + 0,2 „ NaCl-Lösung
„ f 1,6 „ „ + 0,4 „ Hundeserum
„ g 1,6 „ „ + 0,4 „ NaCl-Lösung

| | Einsaat | Nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum | 530 im Mittel | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum aktiv | | 80 |
| 3) 1 „ Kaninchenserum aktiv | | 0 |
| 4) 1 „ Serum a | | 87 |
| 5) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum a | | 4648 |
| 6) 1 „ Serum b | | 4200 |
| 7) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum b | | über 10 000 |
| 8) 1 „ Serum c | | 568 |
| 9) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum c | | 6400 |
| 10) 1 „ Serum d | | 4600 |
| 11) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum d | | 8900 |
| 12) 1 „ Serum e | | 9730 |
| 13) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum e | | über 10 000 |
| 14) 1 „ Serum f | | 18 |
| 15) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum f | | 6300 |
| 16) 1 „ Serum g | | 3200 |
| 17) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum g | | 8200 |

Ein geringer Zusatz von Hundeserum befördert die Herabminderung der milzbrandtötenden Eigenschaften des Kaninchenserums, ein stärkerer wirkt gerade gegenteilig. Allerdings haftet diesem Versuche noch der Fehler an, daß durch die Art der Mischung die Komplementmengen z. B. in Serum b und f ungleich sein müssen. Dieser Fehler wurde später vermieden. Das Gelingen solcher Versuche ist freilich bis zu einem gewissen Grade Zufallssache, da es dabei darauf ankommt, die gerade zur Absorption hinreichende Menge toter Milzbrandkultur zu

1) Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 18.

treffen. Bleibt man darunter, so erhält man überall noch keimtötende Wirkung, geht man darüber hinaus, so wird alles undeutlich. Das gleichzeitige Ausprobieren verschiedener Milzbrandmengen an demselben Serum hat an der Unmöglichkeit, die Zahl der Einzelproben zu bewältigen, bald seine Grenzen. Das Gelingen weniger Versuche liefert übrigens ein hinreichend überzeugendes Bild.

Tabelle XIV.

Normales Hunde- und Kaninchenserum. Zur Absorption werden hergestellt:

Serum a 2 ccm Kaninchenserum + 0,4 ccm NaCl
„ b 2 „ „ + 0,38 „ „ + 0,02 ccm Hundeserum
„ c 2 „ „ + 0,3 „ „ + 0,1 „ „
„ d 2 „ „ + 0,2 „ „ + 0,2 „ „
„ e 2 „ „ + 0,4 „ Hundeserum
} + je $^{2}/_{3}$ toter Agarkult.

| | Einsaat | Nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum aktiv | 96 im Mittel | 4800 |
| 2) 1 „ „ „ + 0,1 Kaninchenserum aktiv | | 0 |
| 3) 1 „ Kaninchenserum aktiv | | 0 |
| 4) 1 „ Serum a | | 6 |
| 5) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum a | | 488 |
| 6) 1 „ Serum b | | 4200 |
| 7) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum b | | 4960 |
| 8) 1 „ Serum c | | 11 |
| 9) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum c | | 4800 |
| 10) 1 „ Serum d | | 368 |
| 11) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum d | | 2880 |
| 12) 1 „ Serum e | | 8 |
| 13) 1 „ Hundeserum + 0,1 ccm Serum e | | 3700 |

Tabelle XV.

Zur Absorption werden hergestellt:

Serum a 2 ccm Kaninchenserum + 0,6 ccm NaCl
„ b 2 „ „ + 0,58 „ „ + 0,02 ccm Hundeserum
„ c 2 „ „ + 0,4 „ „ + 0,2 „ „
„ d 2 „ „ + 0,2 „ „ + 0,4 „ „
„ e 2 „ „ + 0,6 „ Hundeserum
} + je $^{1}/_{4}$ toter Kultur

Ebenso die Proben α, β, γ, δ, ε, mit je $^{1}/_{8}$ toter Kultur.

| | Einsaat | Nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum | 171 im Mittel | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 Kaninchenserum | | 8 |
| 3) 1 „ Kaninchenserum | | 4 |
| 4) 1 „ Serum a | | 118 |
| 5) 1 „ Hundeserum + 0,13 ccm Serum a | | 5 600 |
| 6) 1 „ Serum b | | 1 344 |
| 7) 1 „ Hundeserum + 0,13 ccm Serum b | | über 10 000 |
| 8) 1 „ Serum c | | 1776 |
| 9) 1 „ Hundeserum + 0,13 ccm Serum c | | über 10 000 |
| 10) 1 „ Serum d | | 336 |
| 11) 1 „ Hundeserum + 0,13 ccm Serum d | | 9 800 |
| 12) 1 „ Serum e | | 528 |
| 13) 1 „ Hundeserum + 0,13 ccm Serum e | | 5 448 |
| 14) 1 „ Serum α | | 105 |
| 15) 1 „ Hundeserum + 0,13 ccm Serum α | | 9 200 |
| 16) 1 „ Serum β | | 1 136 |
| 17) 1 „ Hundeserum + 0,13 ccm Serum β | | 8 800 |
| 18) 1 „ Serum γ | | 3 800 |
| 19) 1 „ Hundeserum + 0,13 ccm Serum γ | | 11 700 |
| 20) 1 „ Serum δ | | 5 200 |
| 21) 1 „ Hundeserum + 0,13 ccm Serum δ | | über 10 000 |
| 22) 1 „ Serum ε | | 93 |
| 23) 1 „ Hundeserum + 0,13 ccm Serum ε | | 2 872 |

Die Menge Hundeserum, welche notwendig ist, um die Absorption der an der Abtötung der Milzbrandbacillen beteiligten Stoffe zu erhöhen, wie diejenige, welche wieder das Gegenteil davon bewirkt, wechselt zwar, aber die Gesetzmäßigkeit dieses paradoxen Verhaltens tritt doch klar genug hervor.

Es kann kaum bezweifelt werden, daß es sich hier um einen besonderen Fall von Komplementablenkung handelt, bei dem freilich die Verhältnisse sehr viel komplizierter sind, als bei den bisher bekannten Formen dieser merkwürdigen Erscheinung. In der That werden durch Mischungen von Hunde- und Kaninchenserum die für die Komplementablenkung giltigen Verhältnisse, Immunkörperüberschuß bei gleichbleibendem Komplementgehalt, geschaffen. Doch stellen sich dem Versuche einer einfachen Erklärung in diesem Sinne mannigfache Schwierigkeiten entgegen, zu deren genauerer Analyse und Aufklärung es weiterer Versuche bedarf. Es sei nur noch aus der großen Zahl der mehr oder minder gelungenen Absorptionsversuche folgende auffallend regelmäßige Versuchsreihe angeführt.

Tabelle XVI.

Es werden folgende Mischungen von Hunde- und Kaninchenserum mit je $^1/_5$ bezw. $^1/_4$ toter Milzbrandagar in der gewöhnlichen Weise behandelt:

a) 2 ccm Hundeserum + 0,4 ccm NaCl-Lösung
b) 2 „ „ + 0,3 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum
c) 2 „ „ + 0,2 „ „ + 0,2 „ „
d) 2 „ „ + 0,4 „ Hundeserum
} + je $^2/_5$ toter Kultur

Ebenso die Proben α, β, γ, δ mit je $^2/_4$ toter Kultur

| | Einsaat | Nach 4 Stunden |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Serum a | 191 im Mittel | sehr viele |
| 2) 1 „ „ a + 0,1 ccm Kaninchenserum aktiv | | 4 600 |
| 3) 1 „ „ b | | 16 800 |
| 4) 1 „ „ b + 0,1 „ „ „ | | 2 368 |
| 5) 1 „ „ c | | 9 900 |
| 6) 1 „ „ c + 0,1 „ „ „ | | 1 056 |
| 7) 1 „ „ d | | 2 088 |
| 8) 1 „ „ d + 0,1 „ „ „ | | 95 |
| 9) 1 „ „ α | | sehr viele |
| 10) 1 „ „ α + 0,1 „ „ „ | | ca. 17 800 |
| 11) 1 „ „ β | | 14 200 |
| 12) 1 „ „ β + 0,1 „ „ „ | | 1 624 |
| 13) 1 „ „ γ | | 12 700 |
| 14) 1 „ „ γ + 0,1 „ „ „ | | 976 |
| 15) 1 „ „ δ | | 3 600 |
| 16) 1 „ „ δ + 0,1 „ „ „ | | 112 |

Eine Erklärung dieses Verhaltens soll vorläufig ebenfalls nicht versucht werden. Die genauere Mitteilung bleibt einer zweiten Veröffentlichung vorbehalten.

---

Jedenfalls beweist die leicht ausführbare Erteilung baktericider Wirkungen an das Hundeserum, daß die natürliche Immunität dieses Tieres sehr wohl im Verhalten seines Blutes ihren Grund haben kann. Bewiesen ist aber ferner aufs neue, daß der einfache baktericide Plattenversuch, bezogen auf ein einheitliches Alexin, zur Entscheidung solcher Fragen nur einen geringen Wert hat. Ob das Serum eines Tieres auf einen bestimmten Mikroorganismus tötend einwirkt oder nicht, das hat, so imponierend die Ergebnisse im Reagensglase auch sein mögen, für

die Erklärung der natürlichen Immunität gegen diesen Mikroorganismus jedenfalls nur eine sekundäre Bedeutung.

Die direkte Uebertragung der baktericiden Reagensglasresultate auf den Tierkörper zur Erklärung von dessen Immunität, also die ausschlaggebende Bedeutung der Alexine im Sinne Buchner's, ist unmöglich, wie bereits Hueppe in der Gedenkrede auf Buchner dargetan hat.

Es ist durchaus wahrscheinlich, daß die primäre Bindung, die Anlagerung eines Immunkörpers an den Milzbrandbacillus von weit höherer Bedeutung im Tierkörper ist als die daran sich anschließende, im extravaskulären Versuche einzig sichtbare Wirkung der Abtötung. Die Bindung durch den Immunkörper beweist, daß der Organismus imstande ist, einen Einfluß auf den Krankheitserreger auszuüben, und das dürfte das Wesentliche sein.

Im Einzelnen wird es noch intensiver Arbeit bedürfen, namentlich bei einer Immunität wie die gegen Milzbrand, die so vielfach abweicht von dem bekannten Schema. Hätte man, wie Prof. Hueppe sich gelegentlich ausdrückte, das Studium der theoretischen Immunität mit dem Milzbrande begonnen, so wie er als Ausgangspunkt für morphologische und pathologische Fragestellungen diente, man wäre schwerlich so weit vorgeschritten, wie man es heute ist.

Von diesem Standpunkte aus ist es dann nicht weiter verwunderlich, daß auch die anscheinend so eigenartige Ergänzungsfähigkeit des Hundeserums durch Kaninchenserum nicht auf das Blut dieser beiden Tiere beschränkt ist. Das Serum des Schafes läßt sich in ganz ähnlicher Weise durch Kaninchenserum aktivieren.

---

Anmerkung bei der Korrektur: Vergl. auch Malvoz, Annales de l'Instit. Pasteur. 1902. No. 8.

---



# A study of immunization-haemolysins, agglutinins, precipitins, and coagulins in cold-blooded animals[1]).

[From the marine biological laboratory, Woods Holl, Mass.]

By **Hideyo Noguchi,** M. D.,
Assistant in pathology, University of Pennsylvania.

The side chain theory of immunity, as proposed and developed by Ehrlich and his pupils has been highly productive of results in experimental biology. The particular phase of this theory which deals with the occurrence of "receptors" in somatic cells has brought about emancipation from the purely morphological, and has set up a chemical basis for immunity[2]). Among the most important of the outcomes of the experimental results is the knowledge of the cytotoxins and the related agglutinins and precipitins which has been gained. At the present time it is common knowledge that the injection of erythrocytes of one species of animal into the body of another species is followed

---

1) This study was conducted under a grant from the Carnegie Institute.

2) Morgenroth, Ueber die Erzeugung hämolytischer Amboceptoren durch Serum. (Münch. med. Wochenschr. Bd. XLIX. 1902. p. 1033.

by the appearance in the serum of the host of haemolysins and agglutinins for the foreign corpuscles. In the same way it has been found possible to produce the approximate cell poison (cytotoxin) for a wide group of cells of warm blooded animals through similar injections; and by an identical procedure precipitating substances for a given kind of serum can be produced in the serum of another animal of different species. The resulting agents — cytotoxins, agglutinins, and precipitins — thus produced are hetero-active substances. There has also been achieved, although in a less pronounced degree, a group of iso-agents of identical action; while, on the other hand, the corresponding series of auto-agents is as yet of highly doubtful occurrence.

To one familiar with the main facts of Ehrlich's stimulating hypothesis, the mechanism through which these new agents are produced is readily comprehensible. To those who have not followed the remarkable developments of the new studies of immunity it is not easy to supply, in clear and concise form, the basis of the work which is to be recorded in this paper. And yet a brief recapitulation of the salient features may profitably be given in order that the bearing of that which is to follow may be the more readily understood and appreciated [1]).

The experiments of Ehrlich and his co-worker Morgenroth indicate that special principles are concerned in agglutination and precipitation — the so-called agglutinins and precipitins; and that two principles are concerned in cytolysis. These latter principles are different in origin. One — that which is stable — is the product of immunization, and, on account of certain combining properties possessed by it, they call it "intermediary body" or more latterly "ceptor" and "haptine". The other is normally present in the body juices but is easily destroyed by heat and tends to disappear spontaneously when the fluids are removed from the body. This latter principle, on account of the complemental nature of its action, they propose to call the "complement". The "ceptors" are distinguished into "uniceptors", of which the agglutinins and precipitins, and "amboceptors" of which the haemolysins and bacteriolysins are examples.

There is conclusive evidence that, although the amboceptor (intermediary body) unites first with the cells-bacterial, blood-cells, etc., this substance by itself can not bring about solution. But after the union of the amboceptor with the cells the complement is capable of being brought into action through this intermediation, so that solution takes place.

The union of amboceptor and complement is conceived to take place through certain combining (haptophore) groups present in the cell and in the amboceptor; while the complement is linked through similar combining (haptophore) groups possed by the amboceptor and itself. The complement possesses in addition to such a corresponding

---

1) For a fuller discussion of the hypothesis and its application to important questions of immunity and pathology see: Ehrlich, Schlußbetrachtungen. (Nothnagel's spezielle Pathologie und Therapie. Bd. VIII. 1901.) — Die Schutzstoffe des Blutes. (Dtsch. med. Wochenschr. Bd. XXVII. 1901. p. 865, 888, 913.) Metschnikoff, L'immunité dans les maladies infectieuses. 1901. Ritchie, A review of current theories regarding immunity. (The Journ. of hyg. Vol. II. Cambridge 1902. No. 2, 3 and 4.) Wassermann, Hämolysine, Cytotoxine und Präcipitine. (Volkmann's klin. Vorträge. 1902. No. 331.) Aschoff, Ehrlich's Seitenkettentheorie etc. (Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. I. 1902. Heft 111.) Welch, Huxley lecture. (Brit. med. Journ. 1902. No. 2180. p. 1105.)

haptophore group another group which exhibits fermentative properties (zymotoxic or toxophore group), through the action of which solution of cells takes place. The corollary of the liberation of haemoglobin in the red corpuscles is fond in the solution of other cells (leucolysin, etc.) and the cessation of ciliar and flagellar motions.

This conception of lysis applies not solely to that produced by immunization but the same factors are believed to be operative in the solution of blood cells or of bacteria by normal blood. The origin of the intermediary bodies or ceptors is clearly sketched by Ehrlich. They are yielded by certain constituents of cellular protoplasm within the body, designated "lateral or side chains" or "receptors", which, through their haptophore groups are capable of combining with the haptophore groups of protoplasmic constituents of the bacteria or the body cells or cellular products (toxins) used for immunization. This combination seems to injure or render useless the receptors of the cellular protoplasm without, at the same time, so seriously damaging the cell as to prevent regeneration. The regenerative process does not exactly restore the integrity of the cellular protoplasm, but, in keeping with the general law of regeneration enunciated by Weigert, there tends to be formed similar bodies in excess. The excessive receptors or lateral chains being useless to the cells in which they are produced are cast off and appear in the body juices as intermediary bodies or ceptors which, according to their nature, are designated uni- and amboceptors.

The union of receptor and amboceptor is specific and independent of purely morphological considerations. It depends upon chemical affinities inherent in the lateral chains within the protoplasm. Hence the specificity is not determined solely by the species of animal or plant yielding the material employed for immunization, but, in the last analysis, is the expression of the receptor, no matter where it occurs, which is capable of anchoring a given ceptor or haptine.

The agglutinins, coagulins, and precipitins are specific cell products being yielded by receptors of, perhaps, simpler constitution than those composing the cytotoxins. While the cytotoxic amboceptors possess two combining groups — haptophore and complementophile — the uniceptors to which the agglutinins, precipitins, and coagulins belong possess one haptophore and one special attached group, the latter being agglutinating, precipitating or coagulating as the case may be.

It is not improbable that these bodies may after all, be more complex than was conceived by Ehrlich. Bail[1]) and Eisenberg and Volk[2]) have brought forward experimental evidence that indicates that two distinct principles — called by Bail agglutinophore and hemiagglutinins — are concerned in agglutination. Should their results be confirmed the agglutinins will have to bei viewed as made up of two elements, one a thermostabile amboceptor agglutinophore and the other a thermolabile, aggregating or precipitating principle, hemiagglutinine.

The enthusiastic pursuit of experimental immunization of many kinds of warm blooded animals is in striking contrast to the almost total neglect of the studies upon similar processes in cold-blooded

---

1) Bail, Arch. f. Hyg. Bd. XLII. 1902. p. 307.
2) Eisenberg und Volk, Zeitschr. f. Hyg. etc. Bd. XL. 1902. p. 155.

animals. Metschnikoff[1]), indeed, failed to obtain antitoxin formation in the few experiments carried out by him; but the question whether other immunization products may not be obtained has received no attention. To this subjects my attention was directed.

The choice of method for the latter investigation was easily made. Whereas the detections of small quantities of antitoxins may be attended with many and perhaps, at the present state of our knowledge insuperable difficulties, the discovery of haemolysins, agglutinins, and precipitins is accomplished relatively with ease and certains. Hence, in the experiments to be related a series of antibodies were prepared by injecting cold-blooded animals with foreign corpuscles, serum, aqueous humor, and milk. The animals employed in the experiments were the painted turtle (Chrysemis picta), speckled turtle (Chelopus guttatus), and box tortoise (Emys meleagris) among the vertebrates with erythrocytes and the horseshoe crab (Limulus polyphemus) as representing the invertebrates devoid of red corpuscles.

## Haemolysins and agglutinins.

Exp. I. Painted turtle, weight 400 g. Received 11 ccm of the blood of Rana catesbiana within three weeks. The serum was tested on the sixth day after the last injection. As control, the normal serum of the untreated animal was employed.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Control: 1 ccm normal serum + 5% blood of Rana: moderate agglutination; no haemolysis | 1 ccm immune serum + 5% blood of Rana: immediate strong agglutination; complete haemolysis in one hour | 1 ccm immune serum heated to 5° C + 5% blood of Rana: immediate strong agglutination; no haemolysis | 1 ccm immune serum heated to 5° C + 0,5 ccm normal serum of speckled turtle + 5% blood of Rana: strong agglutination, slight haemolysis in 12 hours | 1 ccm immune serum + 0,5 ccm normal serum of Rana + 5% blood of Rana: strong agglutination, no haemolysis |

From this experiment the conclusion can be drawn that the painted turtle readily immunized to the blood of the bull frog whereby haemolysins and agglutinins are yielded. The immune haemolytic amboceptor produced is completely complemented by its own serum, slightly by the normal complement of the speckled turtle, and not at all by the normal complement of the bull frog. It may be mentioned that the normal sera of the turtles employed in these experiments are nonhaemolytic for the corpuscles of Rana catesbiana.

Exp. II. Painted turtle, weight 350 g. Received 10 ccm of the blood of Paralichthys dentatus, the flounder, within twenty days. The serum was tested on the sixth day after last injection.

| | | |
|---|---|---|
| Control: normal serum 1 ccm + 5% blood of flounder slight agglutination in 2 hours; no haemolysis | Immune serum 1 ccm + 5% blood of flounder: strong agglutination; complete haemolysis in 2 hours | Immune serum 1 ccm heated to 58° C + 5% blood of flounder: strong agglutination; no haemolysis |
| Immune serum heated to 58° C 1 ccm + normal serum 0,5 ccm + 5% blood of flounder: strong agglutination, complete haemolysis in 4 hours | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + serum of speckled turtle 0,5 ccm + 5% blood of flounder: strong agglutination; slight haemolysis in 12 hours | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + serum of flounder 0,5 ccm + 5% blood of flounder; strong agglutination; no haemolysis |

1) Metschnikoff, L'immunité dans les maladies infectieuses. 1901. p. 342.

The painted turtle yields immunization-haemolysins and agglutinins for the blood of the flounder, the former of which, while incapable of being complemented by the serum of the flounder, can not only be completely complemented by its own serum but also partially by the normal serum of the speckled turtle.

Exp. III. Painted turtle, weight 450 g. Received 20 ccm of the blood of the speckled turtle within three weeks. The serum was tested on the sixth day after last injection.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Normal serum 1 ccm + 5% blood of speckled turtle: strong agglutination, no haemolysis | Immune serum 1 ccm + 5% blood of speckled turle: strong agglutination, complete haemolysis in 4 hours | Immuneserum heated to 58° C 1 ccm + 5% blood of speckled turtle: strong agglutination; no haemolysis | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + normal serum 0,5 ccm + 5% blood of speckled turtle: strong agglutination; complete haemolysis in 6 hours | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + normal serum of speckled turtle 0,5 ccm + 5% blood of speckled turtle: strong agglutinat. slight haemolysis in 12 hours |

The painted turtle is readily immunized to the blood of the speckled turtle yielding and haemolysin which is partially complemented by the blood of the speckled turtle and completely by the normal serum of the painted turtle.

Exp. IV. Painted turtle, weight 500 g. Received 20 ccm of the blood of the box tortoise within 22 days. The serum was tested on the sixth day after the last infection.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Control: normal serum 1 ccm + 5% blood of box tortoise: moderate agglutination; no haemolysis | Immuneserum 1 ccm + 5% blood of box tortoise: strong agglutination; complete haemolysis in 1 hour | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + normal serum 0,5 ccm + 5% blood of box tortoise: strong agglutinat.; complete haemolysis in 1 hour | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + normal serum of box tortoise 0,5 ccm + 5% blood of box tortoise: strong agglutination; moderate haemolysis in 12 hours |

The immunization of the painted turtle with the blood of the box tortoise is readily accomplished and the resulting haemolytic amboceptor can be complemented to a considerable degree with the normal serum of the box tortoise.

Exp. V. Speckled turtle, weight 250 g. Received 12 ccm of the blood of the bull frog within three weeks. The serum was tested on the sixth day after last injection.

| | | |
|---|---|---|
| Control: normal serum 1 ccm + 5% blood of bull frog: strong agglutinat. no haemolysis | Immune serum 1 ccm + 5% blood of bull frog: strong agglutinat.; complete haemolysis in 1 hour | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + 5% blood of bull frog; strong agglutination; no haemolysis |
| Immune serum heated to 58° C 1 ccm + normal serum 0,5 ccm + 5% blood of bull frog: strong agglutination; complete haemolysis in 1 hour | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + normal serum of painted turtle + 5% blood of bull frog: strong agglutination; moderate haemolysis in 3 hours | Immune serum heated to 58° C + serum of bull frog 0,5 ccm + 5% blood of bull frog; strong agglutination; no haemolysis in 24 hours |

The point of special interest in this experiment is the capacity of the serum of the painted turtle partially to re-activate the immune serum of the speckled turtle for the bull frog's blood.

Exp. VI. Speckled turtle, weight 250 g. Received 20 ccm of the

blood of the painted turtle within three weeks. Serum tested six days after last injection.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Control: normal serum 1 ccm + 5 % blood of painted turtle: moderate agglutination; no haemolysis | Immune serum 1 ccm + 5 % blood of painted turtle: strong agglutination; compl. haemolysis in 2 hours | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + normal serum 0,5 ccm + 5 % blood of painted turtle: strong agglutination; complete haemolysis in 4 hours | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + serum of painted turtle 0,5 ccm + 5 % blood of painted turtle: strong agglutination; moderate haemolysis in 12 hours |

The incomplete interaction of the complements of the sera of the two kinds of turtles used in this experiment confirm the results of experiments No. III and IV.

Exp. VII. The box tortoise having been immunized with the blood of the painted turtle gave rise to haemolysin and agglutinin for this kind of blood corpuscles. The lytic power was of moderate intensity while the agglutinating action was highly developed. It was also found that the serum of the painted turtle is capable of partially activating the heated immune serum.

The next series of experiments was carried out upon Limulus polyphemus, the horseshoe crab. Especial interest attaches to this series because this animal possesses, no erythrocytes and its serum is normally almost without haematolytic power upon the corpuscles employed for immunization. On the other hand, the serum normally contains agglutinins of striking activity against a wide series of red corpuscles.

As will be noted, even in immunized animals, the solution of red corpuscles proceeds slowly, being in this way in striking contrast to other haemolytic sera with which I have worked. The explanation of this phenomenon is not at once apparent, and whether due to the marked accompanying agglutinations or because of a particular condition of the complementary zymotoxic group is not made out.

In carrying out this series of experiments I was greatly assisted by Dr. E. B. Vedder, of the department of hygiene, University of Pennsylvania, to whom I wish to express my sincere thanks.

The weight of the Limuli employed ranged between 1000 and 2000 g. Some difficulty was experienced in keeping the animals in an active condition and many of the inoculated animals were lost during the process of immunization.

Exp. VIII. Limulus received 2 ccm blood of squeteague. As the animal was in poor condition it was tested on the seventh day following the injection. For this purpose, in all of the experiments, the fluid was obtained by introducing a trocar into the general body cavity.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Control: normal serum 1 ccm + 5 % blood of squeteague; moderate agglutination; no haemolysis | Immune serum 1 ccm + 5 % blood of squeteague; strong agglutination; complete haemolysis in 4 hrs. | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + normal serum 0,5 ccm + 5 % blood of squeteague; strong agglutination; complete haemolysis in 6 hours | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + serum of squeteague 0,5 ccm + 5 % blood of squeteague; no haemolysis | Immune serum heated to 58° C + 5 % blood of squeteague; no haemolysis |

Exp. IX. Limulus received 4 ccm of blood of summer flounder within 30 days. The serum was tested on 7th day after last injection

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Control: normal serum; strong agglutination, no haemolysis | Immune serum + 5 % blood of summer flounder: strong agglutination, compl. haemolysis in 8 hours | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + normal serum 0,5 ccm + flounder's blood: strong agglutination; complete haemolysis in 12 hours | Immune serum heated to 58° C + flounder's blood: no haemolysis | Immune serum heated to 58° C 1 ccm + flounder's serum 0,5 ccm + flounder's blood: strong agglutination; no haemolysis |

Exp. X. Limulus received 10 ccm of the washed corpuscles of the smooth dog-fish within eleven days. The serum was tested on the third day after the last injection.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Control: normal serum + 5 % blood of dog fish; strong agglutination; no haemolysis | Immune serum 1 ccm + 5 % blood of dog fish; strong agglutination; compl. haemolysis in 8 hours | Immune serum heated to 58° C + 5 % blood of dog-fish; strong agglutination; no haemolysis | Immuneserum heated to 50° C 1 ccm + normal serum 0,5 ccm + 5 % blood of dog-fish: strong agglutination; complete haemolysis in 8 hours | Immuneserum heated to 50° C 1 ccm + serum of dog-fish 0,5 ccm + 5% blood of dog-fish; strong agglutination; no haemolysis |

Exp. XI. A Limulus was given 16 ccm of the blood of the smooth dog-fish within two weeks. The serum taken one week after the last injection behaved, with one exception, in all respects as in experiment X, in that haemolysis was completed on an average two hours earlier than in that experiment.

The foregoing experiments show conlusively that haemolysins and agglutinins can be preduced in Limulus in the same manner as in cold blooded vertebrates and in warm blooded animals. The presence, therefore, of suitable receptors for erythrocytes is entirely independant of the function of producing red corpuscles and is thus shown to be of wide distribution in the animal kingdom.

## Iso-haemolysins und Iso-agglutinins.

The experiments as given so far relate to the production of hetero-agglutinins and hetero-haemolysins. That the corresponding iso-bodies can also be produced experimentally in cold blooded vertebrates can equally be shown. For these experiments two species of turtle, Chrysemys picta and Chelopus guttatus, were employed.

Exp. XII. Painted turtle weighing 500 g received during thirty-five days 43 ccm of the blood of the same species of turtle. The serum was tested on the 4th day after last injection.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Control: normal serum + 5 % blood; no agglutination, no haemolysis | Immune serum 1 ccm + 5 % blood of second animal: moderate agglutination; complete haemolysis in 30 minutes | Immune serum heated to 50° C + 5 % blood of second animal: moderate agglutination; compl. haemolysis in 40 min. | Immune serum heated to 58° C + 5 % washed blood of second animal; moderate agglutination; no haemolysis | Immune serum + 5 % blood of speckled turtle: trace of haemolysis in 4 hours<br>Normal serum of painted turtle is without effect |

Exp. XIII. Speckled turtle received five injections of the blood of a second animal, amounting to 13 ccm during 20 days. The serum was tested on the third day after the last injection. The result in this case was negative for isohaemolysis, but it showed the production of a small quantity of isoagglutinin.

Exp. XIV. Speckled turtle, weighing 180 g received during twenty-nine days six injections of the blood of a second animal amount-

ing to 17 ccm. The serum was tested on the fourth day after the last injection.

| | | |
|---|---|---|
| Control: normal serum + 5 % blood of Chelopus: no agglutination no haemolysis | Immune serum + 5 % blood of second animal: moderate agglutination; imperfect haemolysis in 4 hours | Immune serum heated to 50° C + 5 % blood of second animal: moderate agglutinat.; imperfect haemolysis in 4 hours |
| Immune serum heated to 50° C + 5 % washed corpuscles of second animal: moderate agglutination; no haemolysis | Immune serum + 5 % blood of painted turtle: strong agglutinat.; trace of haemolysis in 6 hours | Normal serum of speckled turtle is strongly agglutinative but non-haemolytic for blood of painted turtle |

These experiments can be taken to prove 1) the possibility of the production in turtles of isohaemolysins and isoagglutinins, 2) that the complement is strikingly labile being destroyed at 50° C within 30 minutes, 3) the normal serum contains the requisite complementary body for the immune serum, and 4) such isohaemolysins of one species may exert a slight dissolving effect upon the blood corpuscles of another species for which the normal turtle's blood is without haemolytic power.

### Serum-precipitins and anti-agglutinins.

The formation of precipitins for serum and a number of different proteid bodies by immunization as already been attended to. In my previous paper (this journal. Vol. XXXII. p. 377). I have drawn attention to the occurrence of normal precipitins for certain blood sera in the serum of Limulus. In the same paper the occurrence in Limulus of agglutinins, usually in large amounts, for many kinds of blood corpuscles is also emphasized. In this place I wish to deal first, with the production in Limulus of immunization-precipitins and next, of anti-agglutinins.

Exp. XV. Painted turtle weighing 400 g received 30 ccm of Limulus serum within two weeks. Serum tested on seventh day after last injection. Controls against artificial precipitation were made as follows: normal serum of Limulus with normal serum of Chrysemys, sea water, 0,9 % normal salt, immune serum with sea water and normal salt; all with negative results.

A. Serum precipitin: Serum of Limulus 2 ccm + immune serum 0,5 ccm: bulky cloud appeared in 3—5 minutes and deposited within 30 minutes.

B. Antiagglutinins.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Control: serum of Limulus 2 ccm + normal serum of Chrysemys 0,5 ccm + 5 % turtle's blood: complete agglutination in 3—5 minutes | Control: serum of Limulus 2 ccm + normal serum of Chrysemys 2 ccm + 5 % blood: complete agglutination in 10 min. | Serum of Limulus 2 ccm + immune serum 0,5 ccm + 5 % blood of turtle: complete agglutination in one hour. | Serum of Limulus 2 ccm + immune serum 1 ccm + 5% blood of turtle: partial agglutination | Serum of Limulus 2 ccm + immune serum 1,5 ccm + 5 % blood of turtle: no agglutination |

Exp. XVI. Speckled turtle weighing 300 g received in 12 days 20 ccm serum of Limulus. Tested on fifth day after last injection.

A. Serum precipitin: Control as in Exp. XV. Serum of Limulus 2 ccm + immune serum 0,5 ccm. Cloudy precipitate appeared in 10—15 minutes which increased and deposited in one hour.

B. Antiagglutinins: Controls give strong agglutination. Serum of Limulus 1 ccm + immune serum 0,2 ccm + 5 % Chelopus'

blood: partial agglutination in two hours. Serum of Limulus 1 ccm + immune serum 0,5 ccm + 5 % blood: no agglutination.

The ability to produce readily serum-precipitins and anti-agglutinins for red corpuscles among the cold blooded animals is early indicated by these experiments.

## Aqueous humor precipitins.

For the purpose of this series of experiments the aqueous humor was obtained from the smooth dog-fish (Mustelus canis) and the sand shark (Carcharinas littoralis) and was injected into Chrysemys picta, Chelopus guttatus and Limulus polyphemus.

Exp. XVII. Chrysemys picta, weighing 400 g, received 19 ccm of the aqueous humor of the dog-fish within three weeks. Serum tested on sixth day after last injection.

| | | |
|---|---|---|
| Control: aqueous humor + sea water: no precipitate | Control: aqueous humor 1 ccm + normal serum 0,5 ccm: no precipitate | Aqueous humor 1 ccm + immune serum 0,5 ccm: marked precipitation in 20 minutes |

Exp. XVIII. Chrysemys picta, weighing 450 g, received 20 ccm aqueous humor of the sand shark in three weeks. Tested on seventh day following last injection.

Controls: negative. Aqueous humor 1 ccm + immune serum 0,5 ccm: marked precipitate in 10—15 minutes.

Exp. XIX. Chelopus guttatus, weight 250 g, received 15 ccm of the aqueous humor of the dog-fish in three weeks. Tested on the sixth day after last injection.

Controls: negative. Aqueous humor 1 ccm + immune serum 0,5 ccm: marked precipitation in 15 minutes.

Exp. XX. Chelopus guttatus, weight 200 g, received 12 ccm of the aqueous humor of sand shark within twenty days. Serum tested on eighth day after last injection.

Controls: negative. Aqueous humor 1 ccm + immune serum 0,5 ccm: moderate precipitation in 30 minutes.

Exp. XXI. Limulus received 30 ccm aqueous-humor of dog-fish in two weeks. Serum tested on sixth day after last injection.

Controls: negative. Aqueous humor 1 ccm + immune serum 1 ccm: trace of cloud in one hour; increased in 4 hours.

Exp. XXII. Limulus received 20 ccm of aqueous humor of dog-fish in four weeks. Serum tested on third day after last injection.

Controls: negative. Aqueous humor 1 ccm + immune serum 1 ccm: slight cloud in two hours.

## Precipitins or coagulins for milk.

Cow's milk was employed for injection into the painted and speckled turtle.

Exp. XXIII. Chrysemys picta, weighing 400 g, received 30 ccm of milk within eight days. The serum was tested on the fifth day after the last injection.

Milk 2 ccm, normal serum 0,5 ccm: no precipitate.

Milk 2 ccm, immune serum 0,5 ccm: complete coagulation and precipitation in 15—20 minutes.

Exp. XXIV. Chelopus guttatus, weighing 180 g, received 20 ccm of milk within one week. The serum was tested on the sixth day after last injection.

Milk 2 ccm, normal serum 0,5 ccm: no precipitation.

Milk 2 ccm, immune serum 0,5 ccm: bulky precipitation within 30 minutes.

Conclusions.

1) Artificial haemolysins, agglutinins, anti-agglutinins, serum-precipitins, aqueous humor precipitins, and milk coagulins can be produced through immunization in certain cold blooded animals.

2) The haemolysins and agglutinins for erythrocytes can be produced in animals which do not possess erythrocytes.

3) Iso-agglutinins and iso-haemolysins can be produced in certain species of turtles. The iso-bodies thus developed have a slight erythrolytic action upon the blood of other through related species of turtles.

4) The complements of turtle's blood are rendered inactive by a temperature of 50° C maintained fro 30 minutes.

5) The precipitins and coagulins for aqueous humor and milk respectively can be produced in animals which do not possess the corresponding fluids in sensu stricto.

6) The above facts demonstrate the wide-spread distribution of common receptors through the animal kingdom, and extend the chief tenets of Ehrlich's hypothesis to invertebrates and vertebrates among the cold-blooded animals.

In conclusion I wish to express my thanks to Professor Flexner for his interest in this study.

---



# The interaction of the blood of cold blooded animals with reference to haemolysis, agglutination and precipitation[1]).

[From the Marine Biological Laboratory, Wood's Holl, Mass.]

By **Hideyo Noguchi,** M. D.,

Assistant in Pathology, University of Pennsylvania.

The epoch making studies of Bordet, Ehrlich and Morgenroth and their followers and co-workers upon haemolysis and certain allied phenomena, which have been pursued with so much zeal and success, have related almost exclusively to the warm blooded animals. There are very few observations in the literature upon cold blooded animals, and these relate to the action of the sera derived from them upon the blood cells of warm blooded animals. A systematic study of the behavior of the normal sera of the cold blooded animals upon the blood corpuscles of other species seems not to have been made. The following observations are recorded because of their bearing upon the question, and the theory of haemolysis, agglutinins and precipitins. They form, moreover, the data upon which certain immunization experiments to follow are based.

The technique was the following: For testing haemolysis and agglutination, the undiluted serum was employed. To it a quantity of

1) This study was rendered possible by a grant from the Carnegie Institute.

corpuscles equalling 5 % of the entire mixture was added. Controls in saline solution and native serum were employed and the temperature was uniformly that of the room in summer. In order to facilitate reference a list of animals subjected to study are given in this place[1]). Congo eel, common sea eel, menhaden, herring, squeteague, smooth dogfish, sand shark, summer flounder, winter flounder or flat fish, red sea robin, summer skate, winter skate, barndoor skate, scup, cunner, tautog or black fish, bull frog, blue fish, speckled turtle, painted turtle, snapping turtle, Blanding's box tortoise, lobster, horseshoe crab.

Haemolysis and agglutination.

I. Serum of congo eel (Amphiuma means, Leptocephalus conger).

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Blood of flat fish: | slight | agglutination, | complete | haemolysis | in | 4 minutes |
| „ „ smooth dog-fish: | moderate | „ | „ | „ | „ | 30 „ |
| „ „ winter skate: | weak | „ | „ | „ | „ | 10 „ |
| „ „ cunner: | „ | „ | „ | „ | „ | 3 „ |
| „ „ flounder: | „ | „ | „ | „ | „ | 5 „ |
| „ „ speckled turtle: | strong | „ | „ | „ | „ | 60 „ |
| „ „ painted turtle: | „ | „ | „ | „ | „ | 25 „ |
| „ „ snapping turtle: | moderate | „ | „ | „ | „ | 25 „ |
| „ „ common sea eel: | no | „ | no | „ | | |

II. Serum of common sea eel (Anguilla chrysypa).

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Blood of flounder: | strong | agglutination, | complete | haemolysis | in | 10 minutes |
| „ „ tautog: | „ | „ | „ | „ | „ | 10 „ |
| „ „ smooth dog-fish: | moderate | „ | „ | „ | „ | 43 „ |
| „ „ summer skade: | weak | „ | „ | „ | „ | 12 „ |
| „ „ herring: | moderate | „ | „ | „ | „ | 8 „ |
| „ „ menhaken: | „ | „ | „ | „ | „ | 25 „ |
| „ „ speckled turtle: | strong | „ | „ | „ | „ | 35 „ |
| „ „ painted turtle: | moderate | „ | „ | „ | „ | 25 „ |
| „ „ snapping turtle: | weak | „ | „ | „ | „ | 30 „ |
| „ „ congo eel: | no | „ | no | „ | | |

III. Serum of menhaden (Brevoortia tyrannus).

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Blood of herring: | slight | agglutination, | slight | haemolysis | in | 24 hours |
| „ „ scup: | „ | „ | complete | „ | „ | 5 minutes |
| „ „ squeteague: | strong | „ | „ | „ | „ | 55 „ |
| „ „ flounder: | moderate | „ | „ | „ | „ | 30 „ |
| „ „ sculpin: | „ | „ | „ | „ | „ | 15 „ |
| „ „ sea robin: | strong | „ | „ | „ | „ | 35 „ |
| „ „ bull frog | weak | „ | „ | „ | „ | 2 hours |
| „ „ dog-fish: | slight | „ | slight | „ | „ | 24 „ |
| „ „ speckled turtle: | strong | „ | moderate | „ | „ | 24 „ |
| „ „ painted turtle: | „ | „ | weak | „ | „ | 24 „ |
| „ „ snapping turtle: | moderate | „ | „ | „ | „ | 24 „ |

IV. Serum of herring (Clupea harengus).

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Blood of menhaden: | slight | agglutination, | slight | haemolysis | in | 24 hours |
| „ „ scup: | „ | „ | „ | „ | „ | 24 „ |
| „ „ sculpin: | „ | „ | complete | „ | „ | 1 hour |
| „ „ sea robin: | strong | „ | moderate | „ | „ | 24 hours |
| „ „ painted turtle: | moderate | „ | „ | „ | „ | 24 „ |
| „ „ cunner: | „ | „ | complete | „ | „ | 10 minutes |
| „ „ minnow: | „ | „ | „ | „ | „ | 25 „ |
| „ „ congo eel: | slight | „ | moderate | „ | „ | 24 hours |
| „ „ flat fish: | „ | „ | weak | „ | „ | 24 „ |
| „ „ skate: | „ | „ | „ | „ | „ | 24 „ |

1) The specific names are given in the list of experiments.

V. Serum of squeteaque (Cynoscion regalis).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of menhaden: | slight | agglutination, | complete | haemolysis | in 25 minutes |
| „ „ flounder: | moderate | „ | no | „ | |
| „ „ smooth dog-fish: | „ | „ | trace | „ | „ 24 hours |
| „ „ painted turtle: | „ | „ | weak | „ | „ 24 „ |
| „ „ tautog: | slight | „ | trace | „ | „ 24 „ |
| „ „ bull frog: | „ | „ | complete | „ | „ 10 minutes |
| „ „ blue fish: | no | „ | no | „ | |
| „ „ sculpin: | very slight | „ | weak | „ | „ 24 hours |
| „ „ horseshoe crab [1]): | strong | „ | complete | „ | „ 30 „ |

VI. Serum of smooth dog-fish (Mustelus canis).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of squeteague: | slight | agglutination, | complete | haemolysis | in 15 minutes |
| „ „ flouder: | strong | „ | „ | „ | „ 15 „ |
| „ „ flat fish: | „ | „ | „ | „ | „ 10 „ |
| „ „ tautog: | „ | „ | „ | „ | „ 15 „ |
| „ „ congo eel: | „ | „ | „ | „ | „ 40 „ |
| „ „ winter skate: | weak | „ | moderate | „ | „ 24 hours |
| „ „ cunner: | „ | „ | complete | „ | „ 5 minutes |
| „ „ speckled turtle: | „ | „ | „ | „ | „ 60 „ |
| „ „ painted turtle: | „ | „ | „ | „ | „ 45 „ |
| „ „ snapping turtle: | strong | „ | „ | „ | „ 15 „ |
| „ „ white perch: | „ | „ | „ | „ | „ 12 „ |
| „ „ bull frog: | weak | „ | „ | „ | „ 15 „ |
| „ „ sea robin: | strong | „ | „ | „ | „ 15 „ |
| „ „ scup: | moderate | „ | „ | „ | „ 15 „ |
| „ „ menhaden: | weak | „ | „ | „ | „ 25 „ |
| „ „ toad-fish: | strong | „ | trace | „ | „ 24 hours |
| „ „ sand shark: | no | „ | no | „ | |
| „ „ horseshoe crab: | strong | „ | complete | leucolysis | „ 10 minutes |

VII. Serum of sand shark (Carcharinus, Odontaspis littoralis).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of squeteague: | slight | agglutination, | complete | haemolysis | in 15 minutes |
| „ „ flounder: | strong | „ | „ | „ | „ 5 „ |
| „ „ menhaden: | moderate | „ | „ | „ | „ 20 „ |
| „ „ tautog: | slight | „ | „ | „ | „ 60 „ |
| „ „ toad-fish: | strong | „ | trace | „ | „ 24 hours |
| „ „ cunner: | slight | „ | complete | „ | „ 3 „ |
| „ „ minnow: | moderate | „ | „ | „ | „ 15 minutes |
| „ „ white perch: | strong | „ | „ | „ | „ 2 hours |
| „ „ sea robin: | „ | „ | „ | „ | „ 10 minutes |
| „ „ scup: | moderate | „ | „ | „ | „ 15 „ |
| „ „ smooth dog-fish: | no | „ | no | „ | |
| „ „ horseshoe crab: | moderate | „ | complete | leucolysis | „ 10 minutes |
| „ „ lobster: | strong | „ | „ | „ | „ 30 „ |

VIII. Serum of summer flounder (Paralichthys dentatus).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of winter skate: | strong | agglutination, | complete | haemolysis | in 15 minutes |
| „ „ congo eel: | moderate | „ | moderate | „ | „ 24 hours |
| „ „ common sea eel: | „ | „ | trace | „ | „ 24 „ |
| „ „ squeteague: | slight | „ | „ | „ | „ 24 „ |
| „ „ menhaden: | strong | „ | complete | „ | „ 1 hour |
| „ „ summer skate: | „ | „ | „ | „ | „ 15 hours |
| „ „ smooth dog-fish: | „ | „ | trace | „ | „ 24 „ |
| „ „ bull frog: | „ | „ | complete | „ | „ 7 minutes |
| „ „ flat fish: | slight | „ | no | „ | |
| „ „ tautog: | „ | „ | weak | „ | „ 24 hours |
| „ „ horseshoe crab: | moderate | „ | complete | leucolysis | „ 40 minutes |
| „ „ hermit crab: | „ | „ | „ | „ | „ 30 „ |

1) The horseshoe crab (Limulus polyphemus) possesses no red blood corpuscles.

IX. Serum of flat fish, winter flounder (Pleuronectes Americanus).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of speckled turtle: | strong | agglutination, | complete | haemolysis | in 6 minutes |
| „ „ painted turtle: | „ | „ | „ | „ | „ 5 „ |
| „ „ snapping turtle: | „ | „ | „ | „ | „ 8 „ |
| „ „ congo eel: | slight | „ | trace | „ | „ 24 hours |
| „ „ common sea eel: | „ | „ | „ | „ | „ 24 „ |
| „ „ dog-fish: | strong | „ | „ | „ | „ 24 „ |
| „ „ herring: | „ | „ | complete | „ | „ 2 „ |
| „ „ barndoor skate: | „ | „ | „ | „ | „ 30 minutes |
| „ „ blue fish: | slight | „ | trace | „ | „ 24 hours |
| „ „ dog-fish: | strong | „ | „ | „ | „ 24 „ |
| „ „ summer flounder: | slight | „ | no | „ | |

X. Serum of red sea robin (Prionotus strigatus, P. Carolinus).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of summer skate: | moderate | agglutination, | partial | haemolysis | in 24 hours |
| „ „ puffer: | slight | „ | „ | „ | „ 24 „ |

XI. Serum of summer skate (Pterophryne histrio).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of red sea robin: | slight | agglutination, | complete | haemolysis | in 30 minutes |
| „ „ cunner: | moderate | „ | „ | „ | „ 30 „ |
| „ „ congo eel: | slight | „ | „ | „ | „ 30 „ |
| „ „ dog-fish: | „ | „ | no | „ | |
| „ „ flounder: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ flat fish: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ winter skate: | no | „ | „ | „ | |
| „ „ barndoor skate: | slight | „ | „ | „ | |
| „ „ horseshoe crab: | strong | „ | complete | leucolysis | in 10 minutes |

XII. Serum of winter skate (Raja ocellata).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of cunner: | slight | agglutination, | complete | haemolysis | in 13 minutes |
| „ „ red sea robin: | moderate | „ | „ | „ | „ 5 „ |
| „ „ congo eel: | slight | „ | „ | „ | „ 30 „ |
| „ „ dog-fish: | no | „ | no | „ | |
| „ „ flounder: | slight | „ | „ | „ | |
| „ „ squeteague: | moderate | „ | partial | „ | „ 24 hours |
| „ „ summer skate: | no | „ | no | „ | |
| „ „ barndoor skate: | slight | „ | „ | „ | |
| „ „ horseshoe crab: | strong | „ | complete | leucolysis | „ 10 minutes |

XIII. Serum of barndoor skate (Raja laevis).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of red sea robin: | moderate | agglutination, | complete | haemolysis | in 20 minutes |
| „ „ congo eel: | slight | „ | „ | „ | „ 35 „ |
| „ „ summer skate: | „ | „ | no | „ | |
| „ „ winter skate: | no | „ | „ | „ | |
| „ „ dog-fish: | slight | „ | „ | „ | |

XIV. Serum of scup (Stenotomus crysops).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of herring: | slight | agglutination, | trace | haemolysis | in 24 hours |
| „ „ menhaden: | strong | „ | „ | „ | „ 24 „ |
| „ „ horseshoe crab: | moderate | „ | partial | leucolysis | „ 1 hour |

XV. Serum of cunner (Tautogolabrus adspersus).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of winter skate: | slight | agglutination, | partial | haemolysis | in 24 hours |

XVI. Serum of tautog or black fish (Tautoga onitis).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of smooth dog-fish: | slight | agglutination, | partial | haemolysis | in 24 hours |
| „ „ bull frog: | strong | „ | trace | „ | „ 24 „ |

XVII. Serum of bull frog (Rana catesbiana).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of menhaden: | slight | agglutination, | complete | haemolysis | in 15 minutes |
| „ „ squeteague: | strong | „ | „ | „ | „ 5 „ |
| „ „ flounder: | „ | „ | „ | „ | „ 60 „ |
| „ „ tautog: | „ | „ | „ | „ | „ 2 „ |
| „ „ smooth dog-fish: | slight | „ | „ | „ | immediate |
| „ „ speckled turtle: | „ | „ | trace | „ | in 24 hours |
| „ „ painted turtle: | „ | „ | „ | „ | „ 24 „ |
| „ snapping turtle: | „ | „ | moderate | „ | „ 24 „ |

XVIII. Serum of blue fish (Pomatomus saltatrix).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of squeteague: | no | agglutination, | no | haemolysis | in 24 hours |
| „ „ sculpin: | slight | „ | „ | „ | |

XIX. Serum of speckled turtle (Chelopus guttatus).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of flat fish: | strong | agglutination, | no | haemolysis | |
| „ „ congo eel: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ common sea eel: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ dog-fish: | „ | „ | complete | „ | in 8 minutes |
| „ „ painted turtle: | moderate | „ | no | „ | |
| „ „ snapping turtle: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ bull frog: | strong | „ | trace | „ | „ 24 hours |

XX. Serum of painted turtle (Chrysemys picta).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of flat fish: | strong | agglutination, | no | haemolysis | |
| „ „ congo eel: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ dogh-fish: | „ | „ | complete | „ | in 4 minutes |
| „ „ common sea eel: | moderate | „ | no | „ | |
| „ „ speckled turtle: | strong | „ | „ | „ | |
| „ „ snapping turtle: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ bull frog: | „ | „ | trace | „ | „ 24 hours |
| „ „ tautog: | „ | „ | slight | „ | „ 24 „ |

XXI. Serum of snapping turtle (Chelydra serpentina).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of flat fish: | strong | agglutination, | no | haemolysis | |
| „ „ congo eel: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ common sea eel: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ smooth dog-fish: | „ | „ | complete | „ | in 2 minutes |
| „ „ painted turtle: | „ | „ | no | „ | |
| „ „ speckled turtle: | moderate | „ | „ | „ | |

XXII. Serum of Blanding's box tortoise (Emys meleagris).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of speckled turtle: | slight | agglutination, | no | haemolysis | in 24 hours |
| „ „ painted turtle: | „ | „ | „ | „ | „ 24 „ |

XXIII. Serum of lobster (Homarus Americanus)[1]).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of flat fish: | strong | agglutination, | no | haemolysis | |
| „ „ congo eel: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ common sea eel: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ smooth dog-fish: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ speckled turtle: | „ | „ | trace | „ | in 24 hours |
| „ „ painted turtle: | „ | „ | „ | „ | „ 12 „ |
| „ „ snapping turtle: | „ | „ | „ | „ | „ 12 „ |
| „ „ skate: | „ | „ | no | „ | |
| „ „ white perch: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ sculpin: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ blue fish: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ squeteague: | weak | „ | „ | „ | |
| „ „ sea robin: | moderate | „ | „ | „ | |
| „ „ flounder: | strong | „ | „ | „ | |

XXIV. Serum of horseshoe crab (Limulus polyphemus).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of congo eel: | strong | agglutination, | no | haemolysis | in 24 hours |
| „ „ common sea eel: | {moderate or strong} | „ | „ | „ | |
| „ „ smooth dog-fish: | strong | „ | „ | „ | |
| „ „ cunner: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ minnow: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ winter skate: | „ | „ | „ | „ | |
| „ „ summer skate: | moderate | „ | „ | „ | |
| „ „ barndoor skate: | slight | „ | „ | „ | |
| „ „ red sea rubin: | moderate | „ | „ | „ | |
| „ „ squeteague: | „ | „ | „ | „ | |

1) The lobster and horseshoe crab possess no red corpuscles.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Blood of scup: | strong | agglutination, | no | haemolysis | in 24 hours |
| „ „ sculpin: | moderate | „ | „ | „ | |
| „ „ flounder: | strong | „ | „ | „ | |
| „ „ menhaden: | „ | „ | slight | „ | in 24 hours |
| „ „ herring: | „ | „ | almost complete | „ | „ 24 „ |
| „ „ puffer: | „ | „ | no | „ | |
| „ „ tautog: | moderate | „ | „ | „ | |
| „ „ toad-fish: | strong | „ | „ | „ | |
| „ „ speckled turtle: | „ | „ | trace | „ | „ 24 hours |
| „ „ painted turtle: | moderate | „ | „ | „ | „ 24 „ |
| „ „ snapping turtle: | slight | „ | no | „ | |

This series completes the observations upon the mutual effects as regards agglutination and solution of red corpuscles exercised by the sera of different cold blooded animals. The results do not lend themselves readily to cassification, and from them no systematic conclusions can be drawn. They are, however, not without interest and serve to confirm the wide distribution in this class of animals, as in the warm blooded animals, of natural agglutinins and haemolysins. It is, moreover, noteworthy that in some animals, the turtles for example, while agglutinins for many kinds of blood are present in large quantities, haemolysins are, nevertheless, almost absent. This group of animals also exhibits slight interactions depending, however, upon the existence of small quantities of agglutinins only. It may also be pointed out that striking variations exist in the nature and activities of the agglutinins and haemolysins as exhibited, not only by their actual presence or absence for a particular species, but upon the rapidity and intensity of action. Whereas in many instances the action is quickly over, in others a corresponding effect is obtained after a greater lapse of time. The time factor is, therefore, of importance in estimating activity; and assuming combination to occur with equal rapidity in all the experiments, the ease with which given corpuscles succumb to the dissolving effects of the complements or the conglutinating effects of agglutinins is subject to wide variation. The variation in these phenomena suggests difference in kind of complements and agglutinins in one serum, at least as strongly as a variation in the readiness with which given corpuscles undergo solution or agglutination by a single kind of agent. It is, therefore, a question of some interest whether in these sera there are many complements and perhaps multiplicity of agglutinins upon which these differences depend. The answer to this question will be given in a subsequent paper.

Especial attention may be directed to the occurrence of agglutinins for red corpuscles in the serum of the horseshoe crab and lobster in which animals red cells are wanting. The almost complete absence of haemolysins in the blood is also noteworthy. Conversely, in the case of several sera of cold blooded animals possessing red corpuscles the occurrence of leucolysins as well as agglutinins for the white corpuscles of Limulus and Homarus is easily demonstrable.

An opportunity was at hand to test the effects of the serum of the horse upon corpuscles of certain cold blooded animals. Owing to the fact that the horse's serum was about four weeks old the result, while bearing upon the phenomenon of agglutination, is of no value in regard to that of haemolysis.

XXV. Serum of the horse.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Blood of flat fish: | slight | agglutination, | no haemolysis |
| „ „ congo eel: | „ | „ | „ „ |
| „ „ smooth dogh fish: | no | „ | „ „ |
| „ „ speckled turtle: | strong | „ | „ „ |
| „ „ painted turtle: | „ | „ | „ „ |
| „ „ snapping turtle: | moderate | „ | „ „ |

## Precipitins.

Nuttall[1]) has produced precipitins for cold blooded animals through immunization, but the question of the normal occurrence of precipitins in the sera of this class of animals has not been investigated. The studies, to be related here, show conclusively that such normal precipitins are not uncommon and may be compared with the occurrence of normal haemolysins and agglutinins.

The technique of the experiments is simple. Blood- or body-cavity sera are obtained after coagulation has taken place, and rendered clear by filtration. In some cases as in the horse-shoe crab, repeated passages through a filter may be necessary. The clear products are mixed in the given proportions and the resulting fluids are then compared with controls of the unmixed sera.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| I. Serum of Limulus 1 ccm + | ser. of congo eel | 0,3 ccm: | striking | precip. | in 5 min |
| „ „ „ 1 „ + | „ „ dog fish | 0,3 „ | minute | „ | „ 5 „ |
| „ „ „ 1 „ + | „ „ speckled turtle | 0,3 „ | marked | „ | „ 12 hrs. |
| „ „ „ 1 „ + | „ „ painted turtle | 0,3 „ | „ | „ | „ 12 „ |
| „ „ „ 1 „ + | „ „ flat fish | 0,3 „ | „ | „ | „ 15 min. |
| „ „ „ 1 „ + | „ „ horse[2]) | 0,3 „ | slight | „ | „ 60 „ |
| II. Serum of congo eel 1 ccm + | serum of dog fish | 0,3 ccm: | no precipitation | | |
| „ „ „ „ 1 „ + | „ „ flat fish | 0,3 „ | „ | „ | |
| III. Serum of snapping turtle 1 ccm + | serum of congo eel | 0,3 ccm: | no precipit. | | |
| „ „ „ „ 1 „ + | „ „ dog fish | 0,3 „ | „ „ | | |
| „ „ „ „ 1 „ + | „ „ flat fish | 0,3 „ | „ „ | | |
| „ „ „ „ 1 „ + | „ „ painted turtle | 0,3 „ | „ „ | | |
| „ „ „ „ 1 „ + | „ „ speckled turtle | 0,3 „ | „ „ | | |
| IV. Serum of horse 1 ccm + | ser. of congo eel | 0,3 ccm: | slight | precipit. | after 2 hrs. |
| „ „ „ 1 „ + | „ „ flat fish | 0,3 „ | no | „ | |
| „ „ „ 1 „ + | „ „ dog fish | 0,3 „ | slight | „ | „ 2 „ |
| „ „ „ 1 „ + | „ „ speckled turtle | 0,3 „ | „ | „ | „ 3 „ |
| „ „ „ 1 „ + | „ „ painted turtle | 0,3 „ | trace | „ | „ 4 „ |
| „ „ „ 1 „ + | „ „ snapping turtle | 0,3 „ | „ | „ | „ 4 „ |

The foregoing experiments, which should be extended so as to embrace a much wider group of animals, seems to indicate the existence of natural precipitins comparable with the corresponding agglutinins and haemolysins. They further indicate that there is probably no direct relationship between the presence or proportions of the several principles. On the other hand, if such a small number of experiments can be taken to suggest any wider conclusion, it might be said that the existence of precipitins for a given serum is more likely to occur in a widely-removed rather than a closely-related serum. What the relation may be between the natural precipitins and those produced by immunization can only be conjectured, and yet our present knowledge would lead us to assume this relationship to be analogous to that occurring between the corresponding natural and artificial haemolysins and agglutinins.

1) Nuttall, Brit. med. Journ. 1901. Vol. I. p. 1141; 1902. Vol. I. p. 825.

2) The serum from the horse being available, it was tried, although no systematic study of the interaction of the sera of cold- and warm-blooded animals was attempted.

### Conclusions.

1) The sera of many cold blooded animals contain both agglutinins and haemolysins.

2) The sera of some cold blooded animals contain precipitins.

3) The amount of agglutinin, haemolysin, or precipitin in any given serum is no measure of the amount of either of the other principles.

4) The sera of some species of animals, while strikingly agglutinative for certain kinds of corpuscles, may be entirely or almost devoid of haemolysins for these or even other kinds of corpuscles. Conversely, the occurrence of active haemolysins in a given serum is likely to be attended with the existence of marked agglutinating properties for some species of corpuscles.

5) From their manner of action, the conclusion that a multiplicity of agglutinins and haemolysins in sera, is rendered highly probable.

6) The agglutinins are active upon red and white corpuscles irrespective of whether the animal yielding them possesses both red and white or only white corpuscles. The haemolysins are erythrolytic and leucolytic if obtained from animals possessing red and white corpuscles; while in certain animals possessing only white corpuscles haemolysins in contradistinction to agglutinins are wholly or almost entirely absent.

7) The serum of certain warm blooded animals (i. e. horse) exhibits agglutinating power over red corpuscles of some species of cold blooded animals and causes slight precipitation with a few kinds, at least, of sera of these animals.

---



# Ueber einige Eigenschaften agglutinierender sowie auch anderweitiger spezifischer Serumarten.

[Aus dem bakteriologischen Institute der Universität Moskau.]

Von **W. Beljaeff.**

(Schluß.)

## II.

Die Fähigkeit des Serums, mit verschiedenen Substanzen vorbehandelter Tiere spezifische Niederschläge zu erzeugen, kann natürlich nur dann auf die Bildung eigenartiger spezifischer Substanzen zurückgeführt werden, wenn wir uns von Anfang an überzeugt haben, daß den in Frage stehenden Erscheinungen der spezifische Charakter wirklich zukommt. — Anderenfalls wäre es doch möglich, daß die in der Regel eiweißartigen Niederschläge durch irgendwelche vielleicht ganz banale Veränderungen in dem chemischen Zusammenhange, resp. in den physikalischen Eigenschaften der entsprechenden Sera hervorgerufen würden. Bei der äußerst labilen Natur der Proteïnstoffe und der großen Neigung derselben, unter dem Einflusse verschiedenartiger Agentien sich aus der Lösung in fester Form abzuscheiden, wäre eine solche Vermutung jedenfalls einleuchtend. Nun liegen aber eingehende Versuche über die etwaige Abhängigkeit der Kraus schen und dergleichen Niederschläge von einfachen rein physikalischen resp. chemischen Eigen-

schaften des Serums bis zur Zeit nicht vor. Es schien mir deshalb von Interesse zu sein, eine Reihe physikalischer Konstanten verschiedener spezifischer Sera zu ermitteln und die betreffenden Resultate mit den entsprechenden, an normalen (also nicht vorbehandelten) Tieren ermittelten Zahlen zu vergleichen. Es wurde für jede Serumart systematisch die Erstarrungspunkterniedrigung gegenüber reinem Wasser (Depression), das spezifische Gewicht und der Berechnungsexponent ermittelt.

Bekanntlich können diese 3 physikalischen Konstanten als charakteristisch für den Konzentrationszustand eines Serums, und zwar von verschiedenen Standpunkten aus, betrachtet werden. Während die Depressionszahl eines Serums dessen Gehalt an Substanzen von kleinem Molekulargewicht, also namentlich an Elektrolyten (resp. an organischen Salzen), angiebt, ist dagegen der Refraktionsindex und das spezifische Gewicht von der Konzentration sämtlicher im Serum vorhandener Substanzen, und zwar in höherem Grade solcher von hohem Molekulargewicht (also insbesondere der Albuminstoffe), abhängig. Nun ist es aber wohlbekannt, in welchem Grade vor allem die Konzentrationsverhältnisse für verschiedene reversible, sowie auch irreversible Koagulationserscheinungen der Eiweißstoffe maßgebend sind. Neben den obigen Bestimmungen glaubte ich vom chemischen Standpunkte aus noch die Alkalinitätsverhältnisse der verschiedenartigen spezifischen Sera berücksichtigen zu müssen, und zwar aus dem Grunde, weil der Gehalt eines Serums an freien Basen resp. Säuren für etwaige Gerinnungserscheinungen ebenfalls von großer Wichtigkeit erscheint. Den Erstarrungspunkt habe ich mit Hilfe eines in $^1/_{100}$ Grad geteilten Beckman-schen Thermometers bestimmt. Für jeden Versuch wurden etwa 6—10 ccm Serum verwendet und auch niemals unterlassen, mit derselben Einstellung des Thermometers den Gefrierpunkt des reinen destillierten Wassers zu ermitteln.

Jede Bestimmung wurde mindestens 2mal an demselben Materiale durchgeführt und die Abweichungen einzelner Beobachtungen erreichten in der Regel nicht $^1/_{100}{}^0$.

Das spezifische Gewicht wurde mit Hilfe eines Ostwald'schen Pyknometers, dessen Wassergehalt 1,0934 bei 20° C betrug, bestimmt.

Die Bestimmungen wurden bei 20° ausgeführt und die Resultate auf Wasser bei 4° C bezogen. Zur Messung der Refraktionsindices habe ich mich eines im Besitze des hiesigen bakteriologischen Institutes befindlichen Pulfrich'schen Refraktometers bedient. Der Apparat, welcher mit einer Wasserbadvorrichtung versehen ist, erlaubte die Bestimmungen bei konstanter Temperatur — in meinen Versuchen bei 20° — auszuführen. Die Ablesungen an dem Teilkreise konnten bis auf 1 Minute gemacht werden und der Beobachtungsfehler betrug in der Regel nicht mehr als $\pm$ 0,0001.

Was schließlich den Alkalitätsgrad der Sera anbetrifft, so wurde derselbe auf titrimetrischem Wege, und zwar mit Hilfe von 2 Indikatoren, Phenolphtaleïn und sulphoalyzarinsaurem Natrium, bestimmt. Zum Titrieren dienten $^1/_{100}$ normale KOH- und $H_2SO_4$-Lösungen.

Für jede Bestimmung wurde das Serum mit Hilfe einer genau kalibrierten und 1,9903 ccm fassenden Pipette abgemessen, 25 ccm der Schwefelsäurelösung hinzugefügt und alsdann mit der KOH-Lösung zurücktitriert. Die erhaltenen Resultate sind in den Tabellen III, IV und V enthalten.

Tabelle III giebt eine Reihe an Sera normaler Tiere ausgeführter Bestimmungen an. Es ergiebt sich aus derselben der allgemeine Schluß, daß die Sera sämtlicher warmblütiger Tiere fast genau dieselben physikalischen Konstanten besitzen.

Diese Verhältnisse sind allerdings nicht ganz neu; namentlich sind sie für die Depression und auch für das spezifische Gewicht durch eine Anzahl Forscher festgestellt worden (vergl. namentlich das Werk von Hamburger, „Osmotischer Druck und die Zonenlehre". 1902).

Was die Refraktionsbestimmungen anbetrifft, so sind diesbezügliche Daten nur in der allerletzten Zeit veröffentlicht worden, während meine Resultate bereits im November 1901 der bakteriologischen Abteilung der Naturforschergesellschaft zu Moskau vorgelegt worden sind. Erst im Anfang des vorigen Jahres erschienen die den gleichen Gegenstand behandelnden Arbeiten von Strubel (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 15) und Ussow (Medizinskoje Obosrenje. 1902. No. 17). Fast gleichzeitig mit meiner Arbeit ist in Tomsk eine Dissertation von Butjagin erschienen, in welcher der betreffende Autor ebenfalls einige Refraktionsbestimmungen, allerdings nur für Pferdeserum, angiebt. Die von den zwei letzten Forschern erhaltenen Refraktionsindices kommen den von mir gefundenen im allgemeinen sehr nahe, wie aus den Tabellen III, IV und V ersichtlich ist. Was nun die verschiedenen spezifischen Sera anbelangt, so habe ich an folgenden Serumarten Versuche angestellt:

1) Agglutinierendes Serum. Dasselbe wurde in der Regel auf folgende Weise erhalten: Je 3 abgetötete Agarkulturen von Bac. typhi (resp. Bac. coli commune) wurden mit etwa 4 ccm Bouillon aufgeschlemmt und einem Kaninchen subkutan injiziert. In etwa 12 Tagen erlangt das Agglutinationsvermögen sein Maximum (vergl. Tabelle II).

2) Kraus'sche Niederschläge erzeugendes Serum wurde erhalten, indem man das für die Gewinnung von agglutinierendem Serum angegebene Verfahren benutzt, jedoch die Injektion der abgetöteten Kulturen 4—6mal wiederholte.

3) Nach der Methode von Meyer (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVIII. No. 8/9) erhaltenes Serum. Die Versuchstiere wurden mit Pepton (Adamkewitsch) vorbehandelt.

Der Vollständigkeit wegen habe ich noch einige andere, spezifische Eigenschaften zeigende Serumarten, über welche ich zufällig im hiesigen bakteriologischen Institute verfügen konnte, in das Bereich meiner Untersuchungen gezogen, und zwar:

4) Serum von mit B. cholera asiat. immunisierten Tieren. Es wurde mir durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Iwanoff zur Verfügung gestellt.

5) Diphtherieheilserum, im hiesigen bakteriologischen Institute durch Immunisation von Pferden auf übliche Weise dargestellt.

6) Antileukocytenserum. Dasselbe wurde von Dr. Pomeranzeff durch Immunisation von Kaninchen mit leukocytenreichem Peritonealexsudate eines Meerschweinchens gewonnen und mir ebenfalls zur Verfügung gestellt.

Die Tabelle IV enthält die erhaltenen Resultate zusammengestellt. Der Uebersichtlichkeit halber ist in der Tabelle V noch eine allgemeine Zusammenstellung der an normalen und spezifischen Sera ermittelten Daten gegeben.

Wie aus diesen Tabellen zu ersehen ist, bewegen sich sämtliche

Tabelle IV.

Eigenschaften einiger spezifischer Sera

| No. | Tierspecies. Gewicht | Vorbehandlungsart | Spezifisches Gewicht | Gefrierpunkterniedrigung | Refraktionsindex | Alkalinitätsgrad: 1) Indikator: Phenolphtaleïn in ccm $N/_{100}$-Lösung KOH resp. $H_2SO_4$ (auf 1,9903 ccm Serum) | Alkalinitätsgrad: 2) Indikator: Sulfoalisarinsaures Natrium in Proz. KOH | Agglutination | Niederschläge und andere spezifische Erscheinungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| VIII | Kaninchen 1490 g | 19. Oktober 3 abgetötete Agarkulturen des Bac. Eberthi subkutan. Blutentnahme am 30. Oktober | 1,0257 | 0,63° | 1,34779 | + 0,6 | — | 1:1000 | Mit Typhusbouillonkulturfiltrat 1 : 2 entsteht Trübung nach 20 Stunden bei 37° |
| IX | Kaninchen 2220 g | 21. Oktober subkutan 3 abgetötete Agarstrichkulturen d. Bac. Eberthi. Blutentnahme am 1. November | 1,0270 | 0,57° | 1,34855 | — 0,6 | — | 1:500 | 1:2 und 1:3 leichte Trübung, kein Niederschlag |
| XIV | Kaninchen 2410 g | 17. November subkutan 3 abgetötete Agarkulturen des Bac. Eberthi. Blutentnahme am 27. November | 1,0272 | 0,59° | 1,34864 | — 1,1 | 0,54 | > 1:200 | 1 : 3, 1 : 5, 1 : 10 nach 20 Stunden bei 37° |
| XIX | Kaninchen 18. Okt.: 2000 g 4. Dez.: 1990 „ 23. Jan.: 2010 „ | 20. Novemb. subkutan: 4 abgetötete 24-stündige Kulturen des Bac. Eberthi; 4. Dezember 3 abgetötete Kulturen + $^1/_8$ lebendige 24-stündige Agarkultur; 20. Dezember 1 abgetötete + $^1/_2$ lebende Agarkultur. Blutentnahme am 23. Januar | 1,0264 | 0,63° | 1,34805 | — 0,6 | 0,51 | 1:2000 | 1:10 typische Niederschläge nach 20 Stunden bei 37° |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 65 | Kaninchen<br>24. Nov.: 2160 g<br>17. Dez.: 2150 „<br>15. Jan.: 2170 „<br>13. Febr.: 2150 „<br>4. März: 2145 „ | 24. Nov. 3 abgetötete Agarkulturen des Bac. Eberthi, 17. Dezember 3 abgetötete Agarkulturen, 15. Januar 2 abgetötete Agarkulturen + $^1/_8$ lebendig, 28. Jan. ebenso, 15. Febr. 1 lebend. Agarkult. Blutentnahme am 4. März | 1,0270 | 0,56° | 1,34830 | — | 0,56 | < 1 : 2000<br>> 1 : 1000 | 1 : 3, 1 : 5 und 1 : 10 typische Niederschläge |
| XV | Kaninchen<br>17. Nov.: 1900 g<br>27. Nov.: 1905 „ | 17. November subkutan 2 abgetötete Agarstrichkulturen + 1 Bouillonkultur d. Bac. coli commune. Blutentnahme am 29. Nov. | 1,0256 | 0,61° | 1,34737 | — 2,2 | 0,56 | 1 : 20 | Weder Niederschlag noch Trübung |
| X | Kaninchen<br>2120 g | 22. Oktober subkutan 3 abgetötete Kulturen des Bac. coli commune. Blutentnahme am 3. Oktober | 1,0232 | 0,61° | 1,34652 | + 1,3 | — | 1 : 20 | Keine Niederschläge m. Bouillonkulturfiltraten des Bac. coli u. Bac. Eberthi |
| XI | Kaninchen<br>2000 g | 22. Oktober subkutan 3 abgetötete Agarkulturen des Bac. coli commune | 1,0282 | 0,61° | 1,34940 | — 2,2 | 0,56 | > 1 : 150 | Keine Niederschläge mit Kulturfiltrat des Bac. coli |
| XXI | Kaninchen<br>1450 g | Während $1^1/_2$ Monaten 12 Agarkulturen von Vibrio cholerae asiatica subkutan erhalten | 1,0256 | 0,62° | 1,34779 | — 0,4 | $0,57_8$ | 1 : 2000 | Das Serum erzeugt das Pfeiffer'sche Phänomen |
| XXII | Kaninchen | Vorbehandlg. mit leukocytenreichem Peritonealexsudate eines Meerschweinchens | 1,0261 | 0,58° | — | — 3,0 | 0,40 | — | Auflösung der Leukocyten. Spezifische Niederschläge mit Meerschweinchenserum |
| XII | Kaninchen<br>402 g | Subkutan mehrere Injektionen 10-proz. Lösg. Pepton Adamkewitsch | 1,0257 | 0,63° | 1,34847 | — 0,4 | 0,56 | — | Niederschlag mit 10-proz. Peptonlösung |

Tabelle V.

| Autoren | Tierspecies | | Spezifisches Gewicht | Gefrierpunktserniedrigung | Refraktionsindex | Alkalinitätsgrad in KOH-Proz. (Ind. Sulfoalizarinsaures Natrium) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Verfasser | Kaninch. | normal | 1,0233—1,0267 | $0,54_5$—0,64° | 1,34644—1,34872 | 0,38—0,58 |
| | | auf verschiedene Weise vorbehandelt | 1,0232—1,0282 | 0,57 —0,63° | 1,34652—1,34940 | 0,40—0,57 |
| Verfasser | Pferd | normal | 1,0297 | $0,58_5$° | — | — |
| | | Diphtherieheilserum | 1,0315 | $0,59_5$° | 1,35129 | — |
| Butjagin | „ | normal | 1,0269—1,0311 | — | 1,3473—1,3492 | — |
| | | Diphtherieheilserum | 1,0271—1,0338 | — | 1,3474—1,3510 | — |
| Hamburger | „ | normal | 1,0232—1,0379 | $0,52_7$—$0,58_7$° | — | — |
| Verfasser | Hund | „ | 1,0257—1,0264 | 0,58 —0,59° | 1,34813—1,31864 | 0,38—0,50 |
| Hamburger | „ | „ | 1,0200—1,0278 | 0,55 —$0,63_9$° | — | — |
| Verfasser | Katze | „ | 1,0282 | 0,63° | — | 0,34 |
| Hamburger | „ | „ | 1,0263—1,0292 | 0,60 —$0,64_9$° | — | — |
| Verfasser | Ferkel | „ | 1,0249 | $0,66_5$° | 1,34652 | 0,44 |
| Hamburger | Schwein | „ | 1,0262—1,0371 | $0,56_7$ - $0,66_5$° | — | — |

Tabelle VI.
(Nach Ussow, Medizinskoje Obosrenije, 1902. No. 17.)

| | Datum | Gewicht | Refraktionsindex |
|---|---|---|---|
| Mensch | — | 64,8 kg | 1,34984 |
| Derselbe | nach 2 Monaten | 64,9 „ | 1,34991 |
| Mensch | — | 66,0 „ | 1,34962 |
| Derselbe | nach 2 Monaten | 62,0 „ | 1,34842 |
| Kaninchen, dessen Gewicht dem Nahrungszustande entsprechend wechselte | 21. April | 1605 g | 1,34736 |
| | 27. „ | 1390 „ | 1,34642 |
| | 29. „ | 1365 „ | 1,34556 |
| | 6. Mai | 1505 „ | 1,34568 |
| | 15. „ | 1600 „ | 1,34650 |

physikalischen Konstanten der agglutinierenden resp. spezifische Phänomene erzeugenden Sera fast genau in denjenigen Grenzen, welche für die normalen Sera der entsprechenden Tiere charakteristisch sind. Ebensolche Verhältnisse bestehen auch in Bezug auf den Alkalitätsgrad verschiedener Serumarten.

Aus Obigem ergiebt sich somit der folgende, durch die Thatsachen vollkommen gerechtfertigte Schluß: Die spezifischen Eigenschaften der auf verschiedenartige Weise immunisierten resp. vorbehandelten Tiere sind von einer Reihe einfacher physikalischer Konstanten der entsprechenden Serumarten (Depression, spezifisches Gewicht und Refraktion), sowie vom Alkalitätsgrade derselben als vollkommen unabhängig zu betrachten. Diese Schlußfolgerung widerspricht zwar einem von Butjagin erhaltenen Resultate, demzufolge der Gehalt eines Diphtherieheilserums an Antitoxin mit den Werten des Refraktionsindex desselben ungefähr parallel verlaufen soll.

Nun haben aber in der letzten Zeit Strubel und Ussow gezeigt, daß der Refraktionsindex eines Serums in erster Linie vom Gehalte

desselben an Albuminstoffen und demnach von dem Ernährungszustande des betreffenden Tieres abhängig ist. Es könnten somit die von Butjagin erhaltenen Differenzen zwischen normalem und Heilserum lediglich von dem ungleichen Ernährungszustande der Tiere herrühren. Diese Möglichkeit muß jedenfalls berücksichtigt werden, ehe irgend welche definitiven Schlüsse in Bezug auf Antitoxingehalt und Refraktion von Diphtherieheilserum gemacht werden.

Von diesen noch einigem Zweifel unterliegenden Fällen abgesehen, können die in dieser Mitteilung hervorgehobenen Verhältnisse als in genügender Weise bewiesen gelten.

Diese Arbeit wurde von mir im bakteriologischen Institute der Moskauer Universität ausgeführt. Bei dieser Gelegenheit sage ich dem Direktor desselben, Herrn Dr. G. N. Gabritschewsky, sowie Herrn Privatdozenten L. A. Tschugaeff meinen besten Dank.

---



# Experimentelle Untersuchungen über die Ausscheidung der Typhusagglutinine.

## Versuche an Meerschweinchen.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Zürich.]

Von **C. Stäubli**, cand. med.

Mit 3 Figuren.

Durch zahlreiche eingehende Untersuchungen hervorragender Forscher ist in den letzten beiden Jahrzehnten Licht auf die schon seit langem schwebende, aber in ihrem Wesen unaufgeklärt gebliebene Infektions- und Immunitätsfrage geworfen worden. Man weiß nun, daß im tierischen resp. menschlichen Körper teils natürlich vorhandene Schutzkörper, teils solche vorkommen, die er erst beim Ueberstehen bestimmter Infektionskrankheiten erwirbt und die ihn im Kampfe mit den feindlichen Mikroorganismen festigen. Daraus geht hervor, daß, abgesehen von den Faktoren, die beim infizierenden Virus in Betracht kommen, die Art und Weise, wie ein Organismus sich bei der Infektion mit pathogenen Spaltpilzen verhält, im wesentlichen beeinflußt wird durch die Natur und Menge der Schutzkörper, über die er im Momente der bakteriellen Invasion verfügt oder die im Verlaufe der Infektionskrankheit in ihm entstehen.

Die Menge aber dieser im Serum enthaltenen Antikörper ergibt sich aus dem Verhältnis zwischen ihrer Produktion und ihrer Zerstörung resp. Ausscheidung. Was die Entstehung oder Bildung dieser Stoffe im Organismus betrifft, so bestehen vorderhand noch die verschiedensten Ansichten, von denen hier nur kurz erwähnt sein mögen die Buchner'sche Theorie, wonach die Immunität bedingt wäre durch die Anziehung zwischen spezifischer Substanz und dem chemisch gleichartigen Antikörperkern, die Phagocytentheorie Metschnikoffs, die Zellenseitenkettentheorie Ehrlichs sowie die Theorie der bakteriolytischen Enzyme von Emmerich und Löw. Ein zweites Moment,

von dem der jeweilige Gehalt des Blutes an Schutzstoffen abhängt, ist die Zerstörung im Innern des Organismus resp. die Ausscheidung durch die normalen Sekretionsdrüsen. Ueber die Vernichtung der betreffenden Substanzen beim Stoffwechsel ist nichts bekannt, da sich diese Vorgänge unserer Beobachtung entziehen, dagegen bietet die Technik keine zu großen Schwierigkeiten, die Menge der Antikörper in den Se- resp. Exkreten annähernd zu bestimmen. Die Bedeutung, die diesem Verlust des Körpers an einmal erworbener Widerstandskraft beizumessen ist, bot um so mehr Veranlassung, die verschiedenen Sekrete einer genauen Untersuchung zu unterziehen, als in dieser Hinsicht recht spärliche Mitteilungen in der Litteratur zu finden sind. Nur die Milch ist schon öfter von einigen Autoren auf die verschiedenen Antikörper hin untersucht worden. Ueber die diesbezüglichen Befunde soll in dem betreffenden Kapitel referiert werden.

Ist auch die Frage noch nicht endgültig gelöst, welche Stellung die Agglutinine in der Immunitätserscheinung einnehmen, indem Forscher wie Gruber (19, 20), Durham (20), Trumpp (42), Emmerich und Löw (16) dieselben mit den eigentlichen Immunkörpern identifizieren, nach den Untersuchungen von Frankel (18), Otto (18), Brieger (5), Ehrlich, Morgenroth, Pfeiffer[1]), Kolle[1]), Kruse[2]), Castellani (9), Bail (2), Deutsch (11), Nicolle (27), Frenelle (27), Defalle (10), Rath (34), Salimbeni (38) u. A. dagegen die baktericiden Stoffe und die Agglutinine als verschiedene Substanzen aufzufassen wären, so sind sie für quantitative Untersuchungen wie die nachfolgenden besonders deshalb geeignet, weil sie eine rasche und relativ genaue Mengenbestimmung in vitro gestatten. Wegen der auf jeden Fall weitgehenden Analogie mit den eigentlichen Immunstoffen dürften die Resultate auch zu wertvollen Schlüssen auf diese berechtigen.

---

Als Infektionsmaterial diente der seit Jahren im hiesigen Institute auf künstlichen Nährböden weiter gezüchtete Typhusstamm. Seine Typhusnatur wurde vorerst sichergestellt durch das hochwertige Serum dreier klinisch typischer Typhusfälle, das ihn in Verdünnungen von 1 : 1000 jeweilen noch rasch agglutinierte. Andererseits prüfte ich das Serum eines mit obigem Typhusmaterial behandelten Tieres auf 2 Stämme, die hinsichtlich ihrer Provenienz dem zur Injektion verwendeten möglichst fern stehen. Der eine wurde dem hiesigen Institute von einem Arzte in Sumatra zur Verfügung gestellt, der ihn von einem typhösen Chinesen isoliert hatte. Den anderen verdanke ich der Freundlichkeit des Herrn Dr. Prohaska, Sekundararzt an der medizinischen Klinik der Züricher Universität, der ihn durch Venenpunktion aus dem Blute eines an schwerem Typhus Erkrankten gewonnen hatte. Da die Art und Weise, wie verschiedene Bakterienstämme auf ein und dasselbe Serum reagieren, in letzter Zeit häufig Gegenstand von Untersuchungen war, so möge hier nur kurz erwähnt sein, daß das geprüfte Serum von Tier O mit allen 3 Stämmen den Wert 1 : 6400 zeigte. Zu den Injektionen wurden 48-stündige Agarkulturen verwendet, die mit je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, in zugeschmolzenen Kolben durch 1-stündiges Erhitzen auf dem Wasserbade bei 60° ab-

1) Citiert aus Brieger.
2) Citiert aus Castellani.

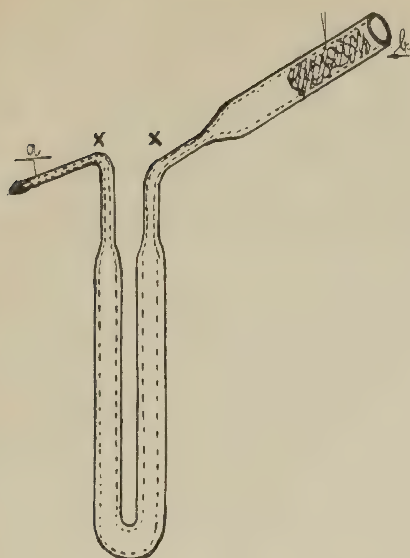
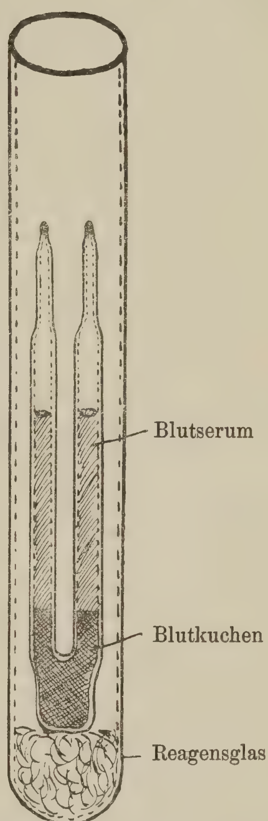


Fig. 1. Pipette A. Natürl. Größe.



Pipette B. $^1/_2$ natürl. Größe.
Nach dem Centrifugieren.

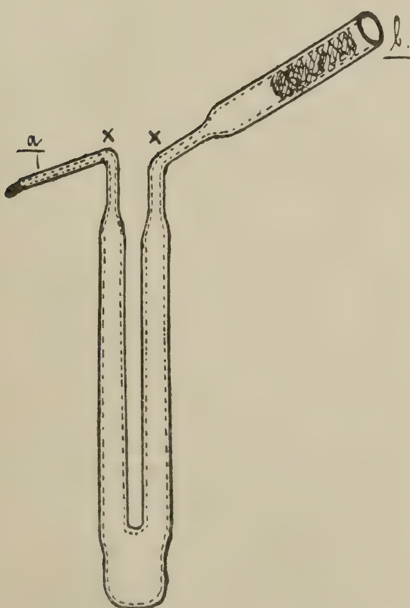


Fig. 2. Pipette B. $^1/_2$ natürl. Größe.

getötet worden waren. Vor der Injektion wurde das Infektionsmaterial durch Ueberimpfen in keimfreie Bouillon auf Sterilität geprüft. Die Injektionen selbst geschahen mit Ausnahme der ersten Versuche stets subkutan, da sich diese Methode mit Rücksicht auf das Endergebnis der

intraperitonealen als gleichwertig, in Bezug auf die Wirkung auf den tierischen Organismus indessen als schonender erwies. Um auch allfällig sehr geringen Gehalt der Sekrete an Agglutinin nachweisen zu können, trachtete ich darnach, einen möglichst hohen Agglutinationswert des Serums zu erzielen. Die bei meinen Tieren erreichten höchsten Werte variierten zwischen 1 : 10000 und 1 : 100000. Das Blut wurde aus den Ohrgefäßen vermittelst nebenstehender Pipetten gewonnen und centrifugiert (s. Fig. 1, 2, 3).

Vor Gebrauch wurden die Pipetten am einen Ende zugeschmolzen, am anderen mit einem kleinen Wattebausch versehen und im Heißluftschrank sterilisiert.

Die Pipette A (Fig. 1) fand Verwendung, wo bei kleinen Tieren nur ganz minimale Mengen Blutes (1—2 Tropfen genügen) gewonnen werden konnten. Die größere Pipette B (Fig. 2) wurde benutzt, wo es sich um Gewinnung bedeutenderer Serummengen handelte. Vor der Blutentnahme wird die Spitze bei *a* abgebrochen und die Oeffnung mit dem aufzufangenden Blute in Berührung gebracht. Teils durch Kapillarität, teils durch die Schwere wird das Blut ins Röhrchen aufgesogen und sammelt sich in dessen tiefst gelegenen Partieen an. Sollte durch Koagulation das Einfließen stocken, so genügt leichte Aspiration bei *b*, um das Hindernis zu heben. Sodann wird die Pipette an den beiden Kapillarstellen *x* in der Flamme ausgezogen, und das in ihr befindliche Blut tüchtig geschüttelt und centrifugiert. Das Serum sammelt sich hierbei vollständig klar über dem Blutkuchen an.

Diese Pipette hat sich bei vielen Hunderten von Blutuntersuchungen gut bewährt. Sie dürfte sich auch zur Abgabe an praktische Aerzte von seiten der hygienischen Institute zwecks serumdiagnostischer Untersuchungen eignen, da die doppelt zugeschmolzenen Röhrchen leicht postale Zurücksendung steriler Blutproben gestatten, hauptsächlich aber diese Pipette gegenüber den bis jetzt gebräuchlichen Pasteur'schen geraden den Vorteil besitzt, daß das Zuschmelzen der Kapillare an der vom Blute entferntesten Stelle stattfindet. Damit fällt der jedenfalls häufig vorkommende Untersuchungsfehler weg, daß das Blut auf über 70° erwärmt wird, wodurch die Agglutinine in ihm zerstört und negative Befunde bedingt werden. Auf diesen Umstand bei der Ausführung der Serumdiagnose ganz besonders aufmerksam zu machen, dürfte nicht überflüssig sein, da durch die dabei nötig werdenden häufigen Sterilisierungen der Instrumente durch siedendes Wasser letztere leicht zu heiß verwendet werden.

Zur Agglutinationsbestimmung genügte jeweilen $^{1}/_{100}$ ccm Serum, aus obigen Röhrchen vermittelst genau graduierter Pipette entnommen.

Der Harn wurde möglichst frisch aufgefangen, durch 4-faches Filter von allfälligen Verunreinigungen befreit und zudem centrifugiert oder da, wo zur Sektion gelangende Tiere Gelegenheit dazu boten, direkt der Harnblase steril entnommen. Auf gleiche Weise wurde sterile Galle gewonnen. Um Speichel und Tränenflüssigkeit in genügender Menge zu erhalten, wurde deren Sekretion durch Injektion einer kleinen Dosis Pilocarpin angeregt. Die Entnahme der Milch bot keine Schwierigkeit.

Mit keimfreier physiologischer Kochsalzlösung wurden zunächst die einzelnen Verdünnungen hergestellt und diesen nun gleiche Mengen einer Aufschwemmung von 2 Oesen einer 18-stündigen Agarkultur in ca. 8 ccm steriler Bouillon zugesetzt, wodurch das Doppelte der ur-

sprünglichen Verdünnung in Anrechnung zu bringen war. (Nach der von F. Pröscher [33] angegebenen Methode bei Verwendung seiner mit Formalin abgetöteten Kulturen). Um mit möglichst gleichen Bakterienkonzentrationen zu arbeiten, bediente ich mich anfänglich ebenfalls der formalinisierten Kulturen. Es zeigte sich aber, daß auch bei diesen keine absolute Konstanz der Bakteriendichte zu erreichen ist. Es bilden sich nach einiger Zeit Häufchen, die auch durch Schütteln nicht mehr in ihre Elemente aufzulösen sind, so daß die Aufschwemmung filtriert werden muß, was zur Folge hat, daß die Zahl der in der Volumeinheit enthaltenen Bakterien allmählich sinkt. Auch fand ich diese abgetöteten Kulturen stets etwas weniger leicht agglutinierbar als die lebenden. So praktisch diese Methode jedenfalls für die Serumdiagnose ist, so erwies sich doch bei meinen in erster Linie quantitativen Bestimmungen die mikroskopische Beobachtung möglichst beweglicher Kulturen als die allein richtige. Bei den zur Untersuchung gelangten Se- resp. Exkreten zeigten sich hie und da Niederschläge, die auf den ersten Blick mit Agglutinationshäufchen unbeweglicher Bakterien hätten verwechselt werden können. Bei Verwendung stark beweglicher lebender Kulturen ist eine solche Täuschung ausgeschlossen, da nicht nur am Rande größerer Häufchen Bakterien zu unterscheiden sind, die mit dem einen Pol festkleben, mit dem anderen dagegen in lebhafter Rotation sich befinden, sondern auch kleinere Häufchen von 3—10 Bakterien durch die zum Teil noch heftig zwirbelnden Elemente in toto fortbewegt werden. Auf diese Erscheinung muß hauptsächlich gegenüber denjenigen Theorieen hingewiesen werden, die als primäre Phase bei dem Agglutinationsphänomen eine Paralysierung der Bakterien annehmen.

Durch einige Uebung läßt sich leicht eine annähernd gleiche Konzentration der Bakterienaufschwemmung erreichen. Geringe Schwankungen in dieser Hinsicht bleiben auf die Genauigkeit des bestimmten Agglutinationstitres ohne Einfluß. Zwar hatte schon Gruber (20) (im Verein mit Durham) die Ansicht geäußert, daß bei der Einwirkung auf die Bakterien die Agglutinine oder, wie er sie damals noch nannte, „Glabrificine" verbraucht werden und in einer späteren Arbeit die Bedeutung der Zahl der Bakterien im Verhältnis zur angewandten Serummenge betont. Förster (17) und Winterberg (45) hatten bei ihren Untersuchungen ebenfalls gefunden, daß der Wert eines agglutininhaltigen Serums je nach der Dichte der zur Prüfung verwendeten Kulturen verschieden groß sein kann. Dagegen gelangten Eisenberg und Volk (14) durch genaue quantitative Bestimmungen und vermittelst der Absorptionsmethode zum Schlusse, daß jene Befunde wohl für extreme Konzentrationsunterschiede Geltung haben, daß aber bei Steigerung der Menge der agglutinierbaren Substanz die Zunahme der Absorption nicht in einfacher Proportion erfolgt, sondern daß einer relativ großen Vermehrung der Bakterienmenge nur eine geringe Steigerung der Absorption entspricht. Die Proben im hängenden Tropfen wurden nach 1-stündigem Aufenthalt im Brütschrank (37°) untersucht. Nach dieser Zeit ist das Agglutinationsphänomen im wesentlichen beendet. Verdünnungen, die unter diesen Umständen noch keine Spur von beginnender Agglutination aufweisen, zeigen auch nach längerer Dauer negatives Ergebnis.

Als Agglutinationswert eines Serums wurde die größte Verdünnung angenommen, bei der noch deutliche in obigem Sinne definierte Agglutinationshäufchen von mindestens 10—15 Bakterien auftraten, vorausgesetzt, daß das gleichzeitige Kontrollpräparat keine Zusammenballung aufwies.

## Untersuchungsergebnisse.

### Urin.

Kurze Zeit nach der Einführung des Gruber-Durham'schen Agglutinationsphänomens in die medizinische Diagnostik durch Widal fand Bormans (4), daß auch der Harn von Typhuskranken die Widal'sche Reaktion gebe, wenn man eine Typhusbouillonkultur mit gleicher Menge Harn mischte, daß aber die Reaktion im Brutofen ehestens nach 12 Stunden auftrete. Er gab selbst zu, daß die Agglutination weniger deutlich als bei Verwendung von Serum sei, fand dagegen klassische Deckglastrockenpräparate. Letztere können natürlich bei der durch das Trocknen an und für sich schon auftretenden Zusammenballung der Bakterien nicht verwertet werden. Zudem spricht, abgesehen von der hohen Konzentration (1 : 1), die nötig war, schon die lange Dauer bis zum Auftreten der Reaktion dagegen, daß es sich um wirkliches Agglutinationsphänomen gehandelt hat.

| Benennung des Meerschweinchens | Zeit nach der ersten Injektion | Wertigkeit des Serums | Wertigkeit des Urins | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| A | 100 Tage | 1 : 10 000 | 1 : 2 0 Agglut. | |
| B | 93 „ | 1 : 2 000 | 1 : 2 0 „ | |
| C | 113 „ | 1 : 4 000 | 1 : 2 0 „ | |
| F | 45 „ | 1 : 6 400 | 1 : 20 0 „ | |
| G | 36 „ | 1 : 1 600 | 1 : 20 0 „ | |
| J | 25 „ | 1 : 4 000 | 1 : 2 0 „ | |
| | 74 „ | 1 : 25 000 | 1 : 10 Andeutung<br>1 : 20 0 Aggl. | |
| R | 23 „ | 1 : 6 400 | 1 : 10 Andeutung<br>1 : 20 0 Aggl. | |
| S | 23 „ | 1 : 12 000 | 1 : 10 Andeutung<br>1 : 20 0 Aggl. | |
| U | 36 „ | 1 : 12 000 | 1 : 5 0 „ | Bei der Sektion der Harnblase steril entnommen. |

Aus obiger Zusammenstellung ergibt sich, daß bei keiner der untersuchten Harnproben in der Verdünnung von 1 : 20 trotz teilweise sehr hoher Wertigkeit des Serums Agglutination zu konstatieren war. Bei allen Untersuchungen in stärkeren Konzentrationen als 1 : 20 ein einwandfreies Urteil zu fällen, war unmöglich, da Niederschläge von normalen Harnbestandteilen manchmal so ausgeprägt waren, daß selbst bei schärfster Beobachtung geringe Agglutination nicht ausgeschlossen werden konnte. Wo die Klarheit des Urins eine sichere Beurteilung bei stärkeren Konzentrationen gestattete, habe ich die Befunde notiert, da gerade diese von Wert sind.

### Galle.

Mitteilungen über Agglutininausscheidung durch die Gallensekretion konnte ich in der Litteratur keine finden. Dagegen hat Vallée (43) eine Arbeit über den Gehalt der Galle an Antitoxinen veröffentlicht und kam zu folgendem Schlusse: „La bile des lapins morts de la rage ne renferme pas d'antitoxine rabique". Das Material zu den nachfolgenden Untersuchungen wurde mit steriler Pipette direkt der Gallenblase entnommen.

| Benennung des Tieres | Wertigkeit des Serums | Wertigkeit der Galle | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| J | 1 : 25 000 | 1 : 200 | | Gallenblase schwach gefüllt. Galle bei der Entnahme durch etwas Blut (makroskopisch und mikroskopisch nachweisbar) verunreinigt. |
| R | 1 : 25 000 | 1 : 20 | ganz geringe Andeutung | |
| | | 1 : 40 | negativ | |
| S | 1 : 12 500 | 1 : 10 | Andeutung | |
| | | 1 : 20 | negativ | |
| U | 1 : 12 500 | 1 : 5 | Andeutung | |
| | | 1 : 10 | negativ | |
| III | 1 : 1 600 | 1 : 10 | „ | Das Meerschweinchen wurde mit steigenden Dosen lebender Kulturen immunisiert. |
| a II | 1 : 400 | 1 : 10 | „ | |
| O | 1 : 6 400 | 1 : 50 | positiv | 6 Stunden nach Eintritt des Todes untersucht. |
| | | 1 : 100 | negativ | |

Eine beträchtliche Ausscheidung von Agglutinin durch die Galle war also bei 5 Tieren nicht zu konstatieren. Daß Meerschweinchen O einen etwas höheren Gehalt zeigte, rührte vielleicht von postmortalem Uebergang aus den Geweben in die Galle her. Was Fall J betrifft, so genügte bei der hohen Agglutinationskraft des Serums eine ganz geringe Beimengung von Blut, um der Galle den gefundenen Wert zu verleihen. Ich glaubte aber der Vollständigkeit halber diesen Befund nicht übergehen zu dürfen.

Um genügende Mengen Speichel- und Tränensekret zu erhalten, war ich genötigt, die normale Sekretion dieser Drüsen durch Injektion einer ganz geringen Dosis Pilocarpin zu steigern. Trotz dieses Hilfsmittels war es nur bei 2 Tieren möglich, die Tränenflüssigkeit auf Agglutiningehalt zu prüfen.

Tränensekret.

| Benennung des Tieres | Wertigkeit des Serums | Wertigkeit des Tränensekrets | |
|---|---|---|---|
| R | 1 : 25 000 | 1 : 10 | kleine Häufchen |
| | | 1 : 20 | 0 Aggl. |
| S | 1 : 25 000 | 1 : 10 | kleine Häufchen |
| | | 1 : 20 | 0 Aggl. |

Trotz der hohen Wertigkeit des Serums waren in beiden Fällen nur in der Verdünnung 1 : 10 geringe Spuren von Agglutinin nachweisbar.

Speichel.

| Benennung des Meerschweinchens | Wertigkeit des Serums | Wertigkeit des Speichels | |
|---|---|---|---|
| A | 1 : 10 000 | 1 : 50 | kleine Häufchen |
| | | 1 : 100 | negativ |
| J | 1 : 25 000 | 1 : 10 | 0 Aggl. |
| R | 1 : 25 000 | 1 : 20 | positiv |
| | | 1 : 50 | negativ |
| S | 1 : 12 500 | 1 : 20 | positiv |
| | | 1 : 50 | negativ |

Die Agglutininausscheidung durch die Speicheldrüsen scheint, wenn auch absolut sehr gering, so doch relativ etwas erheblicher zu sein als durch die anderen bis dahin untersuchten Drüsen. Diese Erscheinung dürfte damit zusammenhängen, daß die Speicheldrüsen schon normaliter ganz geringe Mengen Eiweißkörper ausscheiden.

### Fruchtwasser.

Obschon die Frage noch nicht definitiv entschieden ist, ob das Fruchtwasser als Transsudat von seiten der mütterlichen Gewebe durch die Eihäute hindurch in die Amnionhöhle aufzufassen ist, oder ob es durch Sekretion von seiten des Fötus entsteht, so benutzte ich die Möglichkeit, wo sie sich mir zeigte, auch dieses auf den Gehalt an Agglutinin zu prüfen. Bei Meerschweinchen J bot das zur Sektion kommende gravide Tier Gelegenheit dazu, bei Meerschweinchen N handelte es sich um die Frühgeburt von zwei toten Früchten, die mitsamt Placenta, Eihäuten und reichlichem Fruchtwasser im Amnionsack ausgestoßen worden waren.

| Meerschweinchen | Wertigkeit des Serums | Fruchtwasser | | |
|---|---|---|---|---|
| J | 1 : 25 000 | Fötus I | 1 : 20 | Andeutung von Aggl. |
| | | „ II | 1 : 50 | 0 Aggl. |
| N | 1 : 800 | „ I | 1 : 2 | kleine Aggl., Häufchen |
| | | „ II | 1 : 10 | 0 Aggl. |

Wesentliche Ausscheidung von Agglutinin war also nicht zu konstatieren. Geringe Andeutung von Agglutination in hohen Konzentrationen darf auch hier nicht ohne weiteres als ein Produkt der Ausscheidung gedeutet werden, da eine Beimischung minimaler Mengen Serum bei der Entnahme der Flüssigkeit nicht absolut ausgeschlossen werden kann. Was die Vererbung resp. den Uebergang der Agglutinine von der Mutter auf den Fötus betrifft, werde ich nach Abschluß meiner diesbezüglichen Beobachtungen Gelegenheit haben, deren Resultate mitzuteilen.

Es erübrigt nun noch, die Frage zu prüfen, ob vielleicht die normalen Bestandteile des Harns, der Galle etc. die Agglutinine verändern, zerstören oder vielleicht derart binden, daß es nicht mehr zum Gruber-Durham'schen Phänomen kommen kann. Um dies zu entscheiden, versetzte ich ein hochwertiges Serum in der Verdünnung von 1 : 200 mit je gleichen Mengen Urin, Galle, Speichel und Fruchtwasser sowie zur Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung. Die betreffenden Proben wurden während 1 Stunde auf 37° gehalten und auf ihre restierende Agglutinationskraft geprüft. Eine merkliche Verminderung des Agglutinationsvermögens zeigte sich nicht.

Eine weitere Möglichkeit war die, daß beim Mechanismus resp. Chemismus der Sekretion schon das Agglutininmolekül eine Abspaltung resp. Zerstörung seiner weniger widerstandsfähigen Komplexe erfährt. Ehrlich hatte nachweisen können, daß das Diphtherietoxin aus einer labilen, wenig widerstandsfähigen, toxisch wirkenden und einer widerstandsfähigen, die Bindung bedingenden Gruppe besteht. Erstere nannte er die toxophore, letztere die haptophore Gruppe. Myers[1]) fand die-

1) Citiert aus Eisenberg und Volk, Untersuchungen über die Agglutination.

selbe Konstitution für das Schlangengift, Madsen[1]) für das Tetanolysin, Bulloch[1]) für das Pyocyaneuslysin, Neisser und Wechsberg[1]) für das Staphylolysin. Fast gleichzeitig veröffentlichten Bail (2) und Eisenberg und Volk (14) in derselben Richtung geführte Arbeiten über die Konstitution der Agglutinine. Diese Untersuchungen zeitigten das übereinstimmende Ergebnis, daß die Agglutinine ebenfalls nicht als einheitliche, sondern als komplexe Körper mit 2 Gruppen aufzufassen sind. Die eine derselben würde die Fällung bedingen, und wäre gegen chemische und physikalische Einflüsse sehr wenig widerstandsfähig. Bail nannte sie Hemiagglutinin. Die andere wäre die eigentlich spezifische, bindende Gruppe und gegen Säuren und Hitze sehr stabil; Bail legte dieser den Namen Agglutinophor bei, Eisenberg und Volk die Benennung Agglutinoid. Beide stützten ihre Ansicht auf die Tatsache, daß das Serum bei Erwärmen über 58° allmählich an Agglutinationskraft einbüßt und diese bei 75° schließlich ganz verliert. Läßt man nun ein solches inaktives Serum längere Zeit auf die betreffenden Bakterien einwirken, so verlieren diese die Fähigkeit, durch ein anderes unerhitztes, aktives Serum agglutiniert zu werden. Es muß also im erhitzten Serum trotz der Zerstörung der das eigentliche Fällungsphänomen bedingenden Gruppe eine solche vorhanden sein, welche die Bakterien besetzt und sie vor der Fällung durch aktives Agglutinin schützt.

Angenommen nun, es würde beim Vorgang der Sekretion die labile, zymotoxische Gruppe zerstört, so müßten in den betreffenden Sekreten wenigstens die äußerst widerstandskräftigen, haptophoren oder bindenden Reste erhalten bleiben. Um das Vorhandensein solcher eventuell nachzuweisen, versetzte ich Harn, Galle, Speichel und Fruchtwasser mit Typhusbacillen und setzte diese verschiedenen Aufschwemmungen während längerer Zeit der Bruttemperatur von 37° aus. Waren in den betreffenden Ausscheidungsprodukten Agglutinophore resp. Agglutinoide enthalten, so mußten sich diese auf der Bakterienzelle vermöge der nachgewiesenen hohen Avidität fixieren und sie für normales Agglutinin unempfänglich machen. Nun wurden aber die auf diese Weise behandelten Bakterien durch aktives Serum prompt agglutiniert. Weiter prüfte ich nun, ob im Harn vielleicht durch Zusatz von Normalserum unwirksames Agglutinin reaktiviert werden könnte, wie dies Bordet (3) in Bestätigung der Untersuchungen von Fraenkel und Sobernheim mit den bei 58—60° inaktivierten baktericiden Stoffen des Serums gelungen ist. Das negative Ergebnis überraschte mich nicht, da es mir auch nicht gelungen war, bei 75° inaktiviertes Serum durch Zusatz von Normalserum wieder agglutinierfähig zu machen. Diese sowie die von Bail (3) hervorgehobene Tatsache, daß die Agglutinine erst bei 75° vollständig wirkungslos gemacht werden, muß gegenüber Jattas (21) Ansicht von der völligen Analogie zwischen den Immunsubstanzen und den agglutinierenden Stoffen des Serums mit Bezug auf chemische und thermische Einflüsse hervorgehoben werden. Das Ergebnis der verschiedenen Versuchsreihen zusammenfassend, gelang es also nicht, eine Veränderung der Agglutinine nachzuweisen, weder beim Vorgang der Sekretion an und für sich, noch durch die normalen Bestandteile der betreffenden Sekrete.

---

1) Citiert aus Eisenberg und Volk, Untersuchungen über die Agglutination.

### Milch.

Ganz andere Resultate zeitigten nun die Untersuchungen der Milch. Ehrlich (12) hat zuerst auf den Uebergang der Schutzkörper durch die Milch von der Mutter auf den kindlichen Organismus hingewiesen. Durch seine Ammenversuche bei Mäusen konnte er konstatieren, daß die durch Injektionen von pflanzlichen Toxinen, wie Ricin und Abrin, im mütterlichen Körper entstehenden Antitoxine bei Säugung von Jungen, die von einer normalen Mutter abstammen, dem säugenden Organismus zugeführt werden und ihm eine mit der Dauer der Säugung wachsende Immunität verleihen. Gleiche Befunde erhielt er später mit Tetanustoxinen resp. Antitoxinen.

Brieger und Ehrlich (7) kamen an der Hand weiterer Untersuchungen mit Tetanus zum Schlusse, daß mit der Steigerung der Immunität auch der Gehalt der Milch an Antikörpern steigt. Eine weitere Arbeit über diese Frage von Brieger und Cohn (6) hatte zum Ergebnis, daß auch die Antikörper der Milch gegenüber dem Tetanusgift Heilkraft entfalten und daß nach Einwirkung des Tetanusgiftes dem unabwendbaren Tode verfallene Mäuse noch sicher gerettet werden können (durch die erwähnten Antikörper der Milch), wenn die tetanischen Symptome noch nicht zum Ausbruch gelangt sind. Sowohl Ransom[1]) wie Römer (37) konnten den Uebergang von Tetanusantitoxin von der Stute auf das Fohlen durch Säugung konstatieren. Antitoxingehalt der Milch von Tieren, die gegen Diphtherie immunisiert worden waren, haben nachgewiesen Ehrlich und Wassermann (13) sowie Salomonsen und Madsen (39). Widal und Sicard (44) haben die Ehrlich'schen Versuche mit pflanzlichem Tetanusantitoxin und mit dem Typhusagglutinin ebenfalls bei Mäusen wiederholt und schrieben darüber: „Nous avons pu par l'allaitement communiquer la réaction agglutinante aux petits des souris“. Landouzy und Griffon (23) konnten einen Fall von Typhus mitteilen, bei dem die Mutter 3 Monate nach der Geburt erkrankte und später sowohl das Serum von der Mutter wie dasjenige des von ihr gestillten Kindes positive Reaktion gab. Einen ähnlichen Fall beobachtete Castaigne (8). Er fand für das Serum der mehrere Wochen nach der Entbindung erkrankten Frau einen Agglutinationswert von 1:1200, für die Milch einen solchen von 1:600. Kasel und Mann (22) berichteten über 3 Fälle, bei denen beim einen die Erkrankung 1 Jahr, bei den beiden anderen längere Zeit zurücklag. Das Serum der Mütter zeigte Agglutination in der Verdünnung 1 : 50, die Milch eine solche vom Werte 1 : 12 bezw. 1 : 50. Agglutinine in der Milch haben ebenfalls nachgewiesen Achard und Bensaude (1), Remlinger (35) und Thiercelin und Lenoble[2]). Schumacher (40) hatte Gelegenheit, bei einer Frau, die ca. 4 Wochen nach dem ersten Auftreten von Typhus ein Kind im 9. Monat gebar, den Agglutinationswert des Serums und der Milch der Mutter zu prüfen. Er fand am Tage der Geburt für beide den gleichen Wert 1 : 400.

Rodella (36) kam bei seinen Untersuchungen mit Proteus vulgaris an 4 Meerschweinchen zu folgenden Resultaten:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1. | Serum | deutlich positive Reaktion | Milch | 0 Reaktion |
| 2. | „ | 1 : 600 | „ | 1 : 60 |
| 3. | „ | 1 : 100 | „ | 1 : 40 |
| 4. | „ | 1 : 600 | „ | stark agglutinierend |

1) Citiert aus Römer.
2) Citiert aus Kasel und Mann.

Eigene Untersuchungsresultate.

| Bezeichnung des Tieres | Datum der Untersuchung | Datum der Geburt | Datum der ersten Injektion | Datum der letzten Injektion | Wertigkeit des Serums | Wertigkeit der Milch | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| B | 23. Aug. | 23. Aug. | 11. Juni | 4. Aug. | 1 : 16 000 | 1 : 16 000 | Die Milch wurde nicht auf höheren Titre unters. |
| | 29. „ | | | | 1 : 16 000 | 1 : 16 000 | |
| | 12. Sept. | | | | 1 : 2 000 | 1 : 1 000 | |
| | 28. „ | | | | 1 : 2 000 | 1 : 600 | |
| | 3. Dez. | 3. Dez. | | | 1 : 400 | 1 : 12 800 | |
| | 5. „ | | | | 1 : 400 | 1 : 800 | |
| C | 13. Nov. | 13. Nov. | 11. „ | 22. Okt. | 1 : 6 400 | 1 : 1 600 | |
| | 19. „ | | | | 1 : 6 400 | 1 : 1 600 | |
| | 26. „ | | | | 1 : 6 400 | 1 : 1 600 | |
| | 10. Dez. | | | | 1 : 6 400 | 1 : 1 600 | |
| D | 15. Nov. | 15. „ | 11. „ | 29. Sept. | 1 : 12 800 | 1 : 800 | |
| | 19. „ | | | | 1 : 12 800 | 1 : 400 | |
| | 26. „ | | | | 1 : 6 400 | 1 : 400 | |
| | 3. Dez. | | | | 1 : 6 400 | 1 : 400 | |
| J | 25. Sept. | 25. Sept. | 30. Aug. | 12. „ | 1 : 4 000 | 1 : 32 000 | Die Milch konnte nicht mehr weiter untersucht werden, da die Funktion der Michdrüse infolge Inaktivität (Totgeburt) bald sistierte. |
| L | 28. „ | 27. „ | 16. Sept. | 16. „ | 1 : 10 | 1 : 50 | |
| R | 5. Nov. | 5. Nov. | 13. Okt. | 29. Okt. | 1 : 6 400 | 1 : 100 000 | |
| S | 5. „ | 5. „ | 13. „ | 29. „ | 1 : 12 800 | 1 : 100 000 | |
| V | 23. „ | 23. „ | 22. Nov. | 26. Nov. | 1 : 25 negativ | 1 : 25 negativ | |
| | 3. Dez. | | | | 1 : 3 200 | 1 : 400 | |

Unterzieht man obige Resultate einer kurzen Betrachtung, so verdienen besonders die Verhältnisse bei Tier B ganz besonderes Interesse. Bei der erstmaligen Prüfung wurden bei der Milch nur bis zu derjenigen Grenze Verdünnungen angestellt, bis zu der das Serum noch deutliche Agglutination zeigte, von vornherein von der irrigen Voraussetzung ausgehend, daß die Milch einen niedrigeren Wert aufweisen würde. Es fiel dann aber auf, daß die Milch in der größten Verdünnung noch große Haufen zeigte, also wahrscheinlich einen bedeutend höheren Titre besaß. Das Tier hat seit der letzten Impfung am 4. August keine Injektionen mehr erhalten. Der Wert des Serums fiel langsam, wies am Ende der mittlerweile wieder eingetretenen Gravidität einen solchen von 1:400 auf. Merkwürdiger Weise setzte nun bei Wiederaufnahme der Drüsenfunktion die Milch mit einem Wert von 1 : 12 800 ein. Sie zeigte also einen mehr als 25mal größeren Agglutiningehalt als das Serum. Es muß erwähnt werden, daß hier wie bei allen anderen auffälligen Resultaten, z. B. auch B. 5. Dez., wo die Milch nach 2 Tagen schon nur noch den Wert 1 : 800 zeigte, die Ergebnisse durch eine zweite Probe nachgeprüft wurden, somit Versuchsfehler ausgeschlossen werden dürfen. Bei J, L, R, S konnte bedauerlicher Weise die Milch nicht weiter geprüft werden, da die Jungen entweder tot geboren wurden oder kurz nach der Geburt starben und die Milchdrüse infolge Inaktivität die Funktion einstellte. Der Versuch, fremde Junge durch diese Muttertiere ernähren zu lassen, gelang nicht, weil letztere den Tausch nicht annahmen. Auffällig gegen-

über den bis jetzt betrachteten Resultaten sind die Ergebnisse der Tiere C, D, die einen annähernd konstanten Agglutiningehalt der Milch aufwiesen. Eine gewisse Gesetzmäßigkeit läßt sich aber aus diesen Befunden noch nicht ableiten.

Werfen wir nochmals einen kurzen Blick auf die gesamten mitgeteilten Untersuchungsresultate, so ergeben sich folgende wesentliche Punkte:

1) Die durch Infektion mit Typhusbacillen im Organismus auftretenden Agglutinine sind beim Meerschweinchen im Harn, in der Galle, im Speichel, in der Tränenflüssigkeit, im Fruchtwasser nicht, oder im Vergleich zur Wertigkeit des Serums nur in ganz geringer Menge zu finden.

2) Ein Abbau des Agglutinmolekuls beim Vorgang der Sekretion im Sinne einer Vernichtung der empfindlichen, zymotoxischen = fällenden Gruppe, oder eine Zerstörung durch die normalen Bestandteile der untersuchten Se- resp. Exkrete konnte nicht nachgewiesen werden.

3) Zur Zeit der Laktation werden die Agglutinine in ganz erheblichem Maße, in manchen Fällen, namentlich gleich nach der Geburt, sogar in einer den Serumgehalt bei weitem übersteigenden Menge mit der Milch ausgeschieden.

Schicken wir diesen Untersuchungsergebnissen noch einige Betrachtungen mehr allgemeiner Natur nach, so ist in erster Linie der Mitteilungen Picks Erwähnung (30, 31, 32) zu tun. Er hat den Nachweis geführt, daß die Agglutinine zu den Eiweißkörpern zu zählen sind, oder diesen zum mindesten insofern nahe stehen, als sie sich in der fraktionierten Euglobulinfällung vorfinden. Nun ist ja die Mamma das einzige drüsige Organ des Körpers, das in erheblicherem Maße Eiweißstoffe ausscheidet. Somit wäre es nicht auffallend, daß die Agglutinine überhaupt in der Milch nachweisbar sind. Daß aber der Agglutiningehalt der Milch so auffallend hoch ist, ja unmittelbar nach der Geburt oft sogar bedeutend denjenigen des Blutes übersteigt, bringt den Gedanken nahe, es dürfte die Milchdrüse nicht nur im Sinne der Ausscheidung der mit dem Serum ihr zugeführten Antikörper funktionieren, sondern eine aktive Rolle in der Immunitätserscheinung spielen. Man muß sich hierbei allerdings daran erinnern, daß das Colostrum physiologischer Weise bedeutend reicher an Eiweißstoffen ist, als die in den späteren Tagen sezernierte Milch.

Eine weitere Frage ist die, ob die von der Mutter an den Säugling abgegebenen Agglutinine auch im Blute des letzteren nachzuweisen sind. Um dies zu entscheiden, führte ich die s. Zt. von Ehrlich bei seinen Untersuchungen mit Abrin und Ricin angewendeten Ammenversuche aus, d. h. ich legte hochwertige Milch liefernden Müttern Junge unter, die eben von normalen Tieren geworfen worden waren. Bei den zwei auf diese Weise ernährten Tieren konnte kein Agglutinin im Serum nachgewiesen werden. Diese Resultate stimmen mit denjenigen, die Remlinger (35) u. Widal (44) ebenfalls mit Meerschweinchen gefunden hatten, überein. Es darf indeß nicht unberücksichtigt bleiben, daß das Meerschweinchen eines derjenigen Säugetiere ist, die bei der Geburt am weitesten ausgebildet sind. Schon am ersten Tage läuft es hinter der Mutter her und sucht sich selbst sein Futter. Nach Bunge dient ihm die äußerst fettreiche Milch mehr nur

als Vervollständigung der vegetabilischen Nahrung. In welcher Weise die Agglutinine durch die anderweitige Nahrung beeinflußt werden, entzieht sich unserer Beobachtung. Ueber positive Befunde hinsichtlich des Uebergangs von Antitoxinen und Agglutininen von der Mutter auf den Säugling ist in der Einleitung dieses Kapitels Erwähnung getan.

Es ist hier der Ort, auch kurz der neuesten Untersuchungen von Spolverini (41), Moro (24, 25) u. A. zu gedenken, die zum Gegenstand hatten, die Theorie Escherichs, wonach der Milch nicht nur nutritive, sondern auch fermentative Eigenschaften beizumessen sind, weiter zu verfolgen. Es gelang den Autoren, verschiedene, zum Teil wenig wärmeresistente Fermente in der Milch nachzuweisen. Sie erachten indes die Forschung als noch nicht so weit gediehen, um die bestimmte Behauptung aufstellen zu können, daß die bekannte Minderwertigkeit der sterilisierten gegenüber der rohen Milch der Zerstörung dieser Fermente beim Erhitzen zuzuschreiben sei. Auch Müller u. Aronheim (26) erwähnten es wenigstens als eine Möglichkeit, daß die mit Bezug auf den Kalkansatz im Organismus der rohen nachstehende sterilisierte Milch durch Zerstörung der Fermente allenfalls an Wert verloren habe.

Es entzieht sich also vorderhand zum Teil noch unserem Nachweise, inwieweit die von der Mutter an den Säugling durch die Milch abgegebenen Fermente und Antikörper diesem letzteren zu Nutzen kommen; ob sie für ihn vollständig gleichgültig sind oder ob sie für die Verwertung, resp. Assimilation der aufgenommenen Nährmittel einerseits, zum Kampfe mit den auf den jungen Organismus einstürmenden bakteriellen Feinden andererseits vielleicht von großer Wichtigkeit sind. Zieht man aber die Ergebnisse der Untersuchungen Bunges über die Zusammensetzung der Milch in Betracht, wie zweckentsprechend der mütterliche Körper gerade die für die Jungen nötigsten Nährmittel auszuwählen imstande ist, so darf man wohl dem Gehalte der Milch an Fermenten und Antikörpern nicht von vornherein jegliche Bedeutung absprechen. Auf jeden Fall weisen alle diese Untersuchungen eindringlich auf die natürliche Ernährung des Säuglings durch die Mutter hin, da bei der künstlichen Ernährung die in diesem Falle notwendige Sterilisation wohl schädliche Keime abtötet, gleichzeitig aber auch alle die für den Säugling vielleicht bedeutungsvollen schutz- und fermentativen Stoffe, die fast alle bei Temperaturen zwischen 55 und 80° zerstört werden, ausschaltet.

Zum Schlusse erfülle ich noch die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. O. Wyss für die freundliche Aufmunterung, meine Beobachtungen zu dieser Arbeit auszudehnen, sowie Herrn Dr. Silberschmidt für den zu jeder Zeit in liebenswürdigster Weise erteilten Rat meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Zürich, den 10. Dez. 1902.

---

**Litteratur.**

1) Achard, Action agglutinante du lait de femmes atteintes de fièvre typhoide sur le bacille d'Eberth. (La Semaine médicale. 1896. p. 303).

2) Bail, O., Versuche über Typhusagglutinine und Präcipitine. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLII. 1902. Heft 4.)

3) Bordet, J., Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. IX. 1895.)

4) Bormans, A., Della azione agglutinativa dell' urina del tifosi sul bacillo di Eberth (La Riforma med. 1896. No. 275 u. 276. Ref.: Centralbl. f. Bakt., Paras. u. Infektionskr. Bd. XXIII. 1898.)

5) Brieger, L. (mit Schütze)., Ueber die Darstellung einer spezifisch wirkenden Substanz aus Typhusbakterien. (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXVIII. 1902. No. 27.)
6) Brieger, L. u. Cohn, G., Beiträge zur Konzentrierung der gegen den Wundstarrkrampf schützenden Substanz aus der Milch. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XV. 1893. p. 439.)
7) Brieger u. Ehrlich, Beiträge zur Kenntnis der Milch immunisierter Tiere. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XIII. 1893. p. 336.)
8) Castaigne, Transmission par l' allaitement du pouvoir agglutinant typhique de la mère à l'enfant. Cit. aus Schumacher. (La semaine médicale. 1897. p. 429.)
9) Castellani, A., Ueber das Verhältnis der Agglutinine zu den Schutzkörpern. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXXVII. 1901.)
10) Defalle, W., Recherches sur le role de l'enveloppe des microbes dans l'agglutination. (Annales de l'Instit. Pasteur. Année XVI. Tome XVI. 1902. No. 8.)
11) Deutsch, L., Contribution à l'étude de l'origine des anticorps typhiques. (Ann. de l'Instit. Pasteur. 1899. T. XIII. p. 689.)
12) Ehrlich, P., Ueber Immunität durch Vererbung u. Säugung. (Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskr. Bd. XII. 1892.)
13) Ehrlich u. Wassermann., Ueber die Gewinnung des Diphtherieantitoxins aus Blutserum und Milch immunisierter Tiere. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XVIII. p. 231).
14) Eisenberg, P. u. Volk, R., Untersuchungen über die Agglutination. (Zeitschr. für Hyg. u. Infektionskr. Bd. XL. 1902.)
15) Emden, van, Ueber die Bildungsstätte der agglutinierenden Substanzen bei der Infektion mit Bacillus aërogenes. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXX. 1899.)
16) Emmerich, R. u. Löw, O., Theorie der natürlichen und erworbenen (künstlichen) Immunität. (Anleit. zu hygien. Untersuch. v. R. Emmerich u. H. Trillich. 3. Aufl. München 1902.)
17) Förster, Quantit. Untersuchungen über die agglutinierende u. baktericide Wirkung des Blutserums u. s. w. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXIV. 1897.)
18) Fränkel, E. u. Otto, M., Experimenteller Beitrag zur Lehre von der Agglutinationswirkung des Typhus-Serums. (Münchn. medizin. Wochenschr. Jahrg. XLIV. 1897. No. 39.)
19) Gruber, Aktive und passive Immunität gegen Cholera u. Typhus. (Wiener klin. Wochenschift. Jahrg. XLIII. 1896. No. 11/12.)
20) Gruber, M. u. Durham, H. E., Eine neue Methode zur raschen Erkennung des Choleravibiro und des Typhusbacillus. (Münchn. med. Wochenschr. Jahrg. XLIII. 1896. No. 13.)
21) Jatta, M., Experimentelle Untersuchungen über die Agglutination des Typhusbacillus und der Mikroorganismen der Coligruppe. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXXIII. 1900.)
22) Kasel, Chr. u. Mann, K., Beiträge zur Lehre von der Gruber-Widal'schen Serumdiagnose des Unterleibstyphus. (Münchn. medizin. Wochenschr. 1899. No. 18.)
23) Landouzi et Griffon, Transmission par l'allaitement du pouvoir agglutin. typhique d ela mère à l'enfant. Cit. aus Schumacher. (Comptes rendus de la Société de Biologie. 1897. p. 950.)
24) Moro, Ueber die Fermente der Milch. (74. Vers. deutscher Naturforscher u. Aerzte, Karlsbad. Ref.: Münchner medizin. Wochenschr. Bd. XLIX. 1902. No. 44.)
25) — Ueber die Fermente der Milch. (Jahrb. f. Kinderheilkunde. Bd. LVI. Heft. 3. Ref.: Münchner medizin. Wochenschr. Jahrg. XLIX. 1902. No. 46.)
26) Müller, E., Beitrag zum Kalkstoffwechsel des Säuglings nach gemeinschaftlicheu Stoffwechseluntersuchungen mit Dr. W. Aronheim. (74. Vers. deutscher Naturf. u. Aerzte, Karlsbad. Ref.: Münchner medizin. Wochenschr. Bd. XLIX. 1902. No. 44.)
27) Nicolle, Ch. et Frenel, Recherches sur le phenomène de l'agglutination. (Ann. de l'Instit. Pasteur. XVI. Année. T. XVI. 1902. No. 8.)
28) Pfeiffer, R. u. Friedberger, E., Ueber das Wesen der Bakterienvirulenz nach Untersuchungen an Choleravibrionen. (Berlin. klin. Wochenschrift. Jahrg. XLIX. 1902. No. 25.)
29) Pfeiffer, R. u. Marx, Die Bildungstätte der Choleraschutzstoffe. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXVII. 1898.)
30) Pick, E. P., Zur Kenntnis der Immunkörper. Erste Mitteilg.: Versuche zur Isolierung v. Immunkörpern d. Blutserums. (Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. (Hofmeisters) Bd. I. 1901.
31) — Zweite Mitteilung: Ueber die bei der Agglutination u. der spezif. Niederschlagbildung (Kraus). (Ibidem.)
32) — Dritte Mitteilung: Ueber die Einwirkung chem. Agentien auf die Serumkoagul., Agglut. etc. (Ibidem.) 1902. Heft 10—12.)

33) Pröscher, F., Zur Anstellung der Widal'schen Reaktion. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskr. Abt. 1. Bd. XXXI. 1902. No. 9.)
34) Rath, D., Ueber den Einfluß der blutbildenden Organe auf die Entstehung der Agglutinine. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskr. Abt. I. Bd. XXV. 1899.)
35) Remlinger, P., Contribution expérimentale à l'étude de la transmission héréditaire de l'immunité contre le bacille d'Eberth et du pouvoir agglutinaut. (Annales de l'Instit. Pasteur. T. XIII. 1899. No. 2.)
36) Rodella, A., Experimenteller Beitrag zur Serumreaktion bei Proteus vulgaris. (Centralbl. f. Bakter., Parasit. u. Infektionskr. Abt. I. Bd. XXVII. 1900.)
37) Roemer, Untersuchungen über die intrauterine u. extrauterine Antitoxinübertragung von der Mutter auf ihre Descendenten. (Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 46.)
38) Salimbeni, A. u. Taurelli, Recherches sur l'immunis. dans le choléra. I. Mémoire. Sur l'agglutination. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897. p. 277.)
39) Salomonsen u. Madsen, Recherches sur la marche de l'immunité active contre la diphtérie. (Annales de l'Instit. Pasteur. T. XI. 1896. p. 315.)
40) Schumacher, H., Beitrag zur Frage des Ueberganges der im Serum gesunder und typhuskranker Wöchnerinnen enthaltenen Agglutinine auf den kindlichen Organismus. (Zeitschr. f. Hyg. u Infektionskr. Bd. XXXVII. 1901.)
41) Spolverini, L. M., Ueber lösliche Milchfermente und geeignete Methoden etc. (Annali d'igiene sperimentale. 1902. Ref.: Centralbl. f. Bakt., Paras. u. Infektionskr. Abt. I. Bd. XXXII, 1902.)
42) Trumpp, Das Phänomen der Agglutination u. seine Beziehung zur Immunität. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXIII. 1898.)
43) Vallée, H., Recherches sur les propriétés neutralisantes de la bile à l'égard du virus rabique. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XIII. 1899. p. 508.)
44) Widal et Sicard, Transmission de la substance agglutinante typhique par l'allaitement. (La Semaine médicale 1897. p. 282.)
45) Winterberg, Untersuchungen über die Typhus-Agglutinine und die agglutinierbare Substanz der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXXII. 1899.)

---



# Beitrag zur Kenntnis der Symptome und Prophylaxe der experimentellen Lyssa.

[Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ungar. Franz-Josef-Universität Kolozsvár.
Direktor: Dr. Joseph v. Löte, o. ö. Professor.]

Von Dr. **Daniel Konrádi**, Assistenten.

Es ist bekannt, daß, wenn ein gesundes Kaninchen mit dem das Lyssavirus enthaltenden tierischen Teile infiziert wird, dasselbe nach kürzerer oder längerer Inkubation an Lyssa erkrankt und in einigen Tagen daran zu Grunde geht.

Die Inkubation dauert bei subduraler Infektion nach Angaben Högyes, die wir in unserem Institute auch bestätigen konnten, 12—21, die ausgebrochene Krankheit (Stadium morbi, d. h. dasjenige Stadium, in welchem die typischen Symptome erschienen) 3—5 Tage, obwohl wir auch solche Fälle beobachteten, in welchen die Inkubation 11, die Krankheit $1^1/_2$—2 Tage dauerte.

Im alltäglichen Leben, in der Praxis, haben wir es aber nicht mit subduraler Infektion zu tun, da dieselbe immer auf äußere Verletzung folgt.

Ich beabsichtigte die Verhältnisse der natürlichen Infektion experimentell nachzuahmen in meinen hier folgenden Untersuchungen, und zugleich zu versuchen, ob es nicht gelingen würde, mit lokaler

Behandlung, die in kurzer Zeit nach der Infektion folgt, den Ausbruch der Krankheit zu verhindern.

Ueber solche experimentelle Untersuchungen konnte ich in der einschlägigen Litteratur nichts finden, obwohl die Kenntnis der hier folgenden Symptome und prophylaktischen Maßregeln nicht nur aus wissenschaftlichen Gründen, sondern auch für die Paxis von der größten Bedeutung sein dürfte.

Die Untersuchungen wurden folgenderweise geordnet:

Es wurde die Ohrspeicheldrüse eines an experimenteller Wut eingegangenen Hundes unter allen Kautelen zerschnitten, mit wenig 0,6-proz. NaCl-Lösung zerrieben und dann durch ein Tuch gepreßt. Mit diesem Saft wurden die Versuchstiere infiziert.

Nach Abrasieren der Haare wurde die Haut des Oberschenkels ohne vorläufige Desinfektion skarifiziert, wobei dafür gesorgt wurde, daß an der Skarifikationsstelle kein Blut hervorquoll. Es wurde ein in Speicheldrüsensaft getauchter Pinsel einmal über die Infektionsstelle gestrichen, dann nach bestimmter Zeit mit 1 $^0/_{00}$ Sublimatlösung gut ausgewaschen, schließlich nach der gründlichen Desinfektion mit einem Verband versehen.

Im ganzen wurden 13 Kaninchen in der beschriebenen Weise infiziert am 10. Juni 1901.

Die Infektionsstelle des Kaninchens No. I wurde nach 1, die von No. II, III, etc. nach 2, 3, . . . . 10 Minuten ausgewaschen. Die Kaninchen No. V, XI und XIII (also 3) blieben zur Kontrolle, da sie nach gleicher Infektion gar nicht behandelt wurden. Alle 13 Kaninchen lebten an einem separaten Orte, wo andere Tiere nicht hinkommen konnten.

Die Skarifikationsstelle heilte bei allen Tieren ohne die geringste Reaktion, die Haare wuchsen wieder, und die Tiere fühlten sich so, wie die gesunden.

Das Kaninchen No. V, welches zur Kontrolle diente, ist am 174. Tage traurig, frißt nicht, zittert, der Hinterleib ist schwach, die Temperatur unter dem Normalen; am 180. Tage sind die Hinterbeine gelähmt, am 184. Tag ist die Lähmung so weit vorgeschritten, daß das Tier zu Boden sinkt, den Kopf kaum heben kann und am 186. Tage zu Grunde geht. Gewichtsverlust beinahe um den dritten Teil des ursprünglichen. Die Sektion zeigte außer der großen Magerkeit und Hyperämie des Gehirns nichts Auffallendes. Von den zwei mit dem verlängerten Rückenmarke unter die harte Hirnhaut geimpften Meerschweinchen ging das eine nach 14, das andere nach 16 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Wutkrankheit ein.

Das Kontrolltier No. XIII zeigt 177 Tage nach der Infektion dasselbe Bild wie No. V und geht am 217. Tage zu Grunde. Von zwei von diesem Tiere subdural geimpften Kaninchen geht das eine am 16., das zweite am 17. Tage an typischer Wut ein.

Das 3. Kontrolltier, Kaninchen No. XI, leidet am 289. Tage unter den nämlichen Symptomen, wie seine beiden Genossen, und geht am 313. Tage zu Grunde. Das mit seinem Rückenmarke geimpfte Kaninchen bekommt die Wut in 28 Tagen.

Die behandelten Tiere: Kaninchen I, II, III, IV, VI, VII, VIII, IX, X und XII sind heute[1]), nach 582 Tagen, gesund, sie nahmen an Gewicht zu und vermehrten sich auch.

Es ist bei allen 3 Kontrolltieren sowohl die Dauer der Iukubation

1) Am 12. Januar 1903 bei der Revision der Korrektur.

als auch die des Stadium morbi auffallend lang. Das Stadium incubationis beträgt beim Tiere No. V 174, bei No. XIII 177, bei No. XI 289 Tage, das Stadium morbi hingegen 12, 40, resp. 24 Tage.

Wir beobachteten in einigen Fällen eine auffallend lange Inkubation auch in dem Falle, wenn der infizierende Stoff unter die Haut gebracht wurde. Am 1. Mai 1901 wurden solche Untersuchungen gemacht. Als Infektionsstoff diente das verlängerte Mark eines in der 25. Passage eingegangenen Kaninchens. Die Inkubation dauerte 512, das Stadium morbi 18 Tage. Das Kaninchen, welches aus diesem Tiere subdural geimpft wurde, hat am 8.—9. Tage Fieber und geht am 11. Tage unter typischen Erscheinungen ein.

In einer Untersuchungsreihe brachten wir den Infektionsstoff in die Muskelwunde. Am 21. Oktober 1899 wurden 5 Kaninchen auf solche Weise infiziert. Alle 5 bekamen die Wut, das eine nach einer Inkubation von 169 Tagen, das Stadium morbi dauerte in diesem Falle $2^1/_2$ Tage.

Aus diesen angeführten Daten können wir feststellen, daß die Wut auch infolge kleinerer Verletzungen zu stande kommt. Es ist also nicht richtig, solche kleine Ritzen außer Acht zu lassen, wie das gewöhnlich geschieht. So geschah es am 20. November 1899, als ein wütender Hund die linke Hand eines hiesigen Soldaten kratzte. Er wurde den Schutzimpfungen nicht unterzogen. Am 21. März 1900, also nach einer Inkubation von 120 Tagen, erkrankte derselbe unter den typischen Erscheinungen, welche in 4 Tagen zum Tode führten. Von den zwei aus ihm subdural geimpften Kaninchen ging das eine am 13., das andere am 15. Tage an Wut ein.

Wir sehen auch aus diesen Versuchen und Angaben, daß die Inkubation sowohl bei den Versuchstieren als auch bei dem Menschen sehr lang sein kann. Wenn wir diese Tatsachen nicht kennen, so kann man sehr starke Fehlschlüsse ziehen, was nicht nur aus wissenschaftlichen Gründen, sondern besonders für die Praxis sehr nachteilig ist. Daher kann man den Versuch von Krokiewicz[1]) durchaus nicht als richtig ansehen. Er impfte „Emulsionen von dem verlängerten Rückenmarke einer im 9. Schwangerschaftsmonate an Lyssa eingegangenen Bäuerin und ihres Kindes unter die harte Hirnhaut von 2 trepanierten Kaninchen. Während das mit dem mütterlichen Rückenmarke geimpfte Kaninchen nach 18—19 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Wutkrankheit einging, blieb das mit dem fötalen Rückenmarke behandelte Tier am Leben; 4 Wochen nach der Trepanation getötet, zeigte die Sektion . . . ein völlig negatives Ergebnis“ etc.

Ich will mich mit der streitigen Frage, ob ein Uebertritt des Wutgiftes durch die Placenta von der Mutter auf Kind zustande kommt, oder nicht, nicht beschäftigen, doch muß ich bemerken, daß man aus solchem Versuche keinen Schluß ziehen darf. Wer sich mit experimentellen Untersuchungen bei der Lyssaforschung beschäftigt, findet sehr oft Fälle, in welchen nicht nur bei den ersten, sondern auch bei den mehrfachen Passage-Impfungen das eine Tier (Kaninchen) viel früher, das andere zu gleicher Zeit aus demselben Materiale geimpfte, nach Wochen die Lyssa bekommt. Wir beobachteten Fälle, in welchen bei der 5. Passage nach subduraler Infektion das eine Tier nach 35, das

1) Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 6. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Referate. Bd. XXXII. No. 3.

andere nach 49, und das dritte nach 54 Tagen, also viel später, als 4 Wochen, an Wut erkrankte.

Aus dem Umstande, daß unter 13 Kaninchen an den 10 lokal behandelten bis zum Heutigen, also 582 Tage, die Wut nicht ausgebrochen ist, und man hoffen kann, daß sie schon vielleicht außer Gefahr sind, hingegen die 3 nicht behandelten alle eingingen, könnten wir den praktischen Schluß ziehen, daß es auch beim Menschen gelingen würde, im Falle kleinerer Verletzungen mit einer innerhalb 10 Minuten unternommenen Lokalbehandlung den Ausbruch der Wutkrankheit zu verhindern, was in der Praxis, besonders bei Laboratoriumsinfektionen, von der größten Bedeutung sein dürfte.

Diese Angaben will ich nur als eine vorläufige Mitteilung ansehen; die Versuche werden fortgesetzt, um die Zeit zu erforschen, in welcher mit einer Lokalbehandlung Erfolg erreicht werden könnte.

---



# Ein Apparat für Anaërobenkultur.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des botanischen Instituts der Kaiserl. militär-medizinischen Akademie zu St. Petersburg.]

Von **S. S. Mereshkowsky.**

Mit 1 Figur.

Die meisten bis jetzt zur Kultur von Anaëroben benutzten und zweckentsprechendsten Apparate verlangen entweder eine Gewandtheit in der bakteriologischen Technik, oder sind so zerbrechlich und kostspielig, daß ihre Anschaffung in genügender Anzahl für uns geradezu unmöglich war.

Der am meisten empfohlene Botkinsche Apparat ist in mancher Beziehung sehr zweckmäßig, doch auch er entsprach nicht unseren Arbeitsanforderungen. Diese Anforderungen waren folgende:

1) der Apparat mußte möglichst billig sein,
2) aus wenig zerbrechlichen oder rasch und billig ersetzbaren Teilen zusammengestellt sein,
3) sich durch Kompaktheit auszeichnen,
4) sich schnell durchwärmen,
5) die Vorrichtungen, welche zur Isolierung des Innenraumes von der äußeren Atmosphäre dienen, mußten eine gleichzeitige Verdrängung der Luft aus einer ganzen Reihe von Apparaten und aus einer beliebigen Anzahl in diese Reihe eingeschalteter Gaswaschflaschen zulassen,
6) er mußte so konstruiert sein, daß man in denselben, ohne jegliche Veränderung seiner Teile, bequem Petri-Schalen, Reagiergläser oder Kolben hineinstellen kann,
7) die Manipulationen mit demselben sollten nicht eine zu große Handfestigkeit verlangen.

Der von uns konstruierte Apparat besteht aus einem Rotkupferuntersatze *A* (s. Abb.) und einer Glasglocke *B*, wozu ein Becherglas verwendbar ist. Der obere Teil des Untersatzes ist doppelwandig und bildet eine Art Rinne, in welche das Becherglas hineingestellt wird.

Der Zwischenraum zwischen den Metallgefäßwandungen und dem unteren Rand des Becherglases wird mit geschmolzenem Kitt gefüllt und auf diese Weise eine vollkommen hermetische Dichtung erzielt.

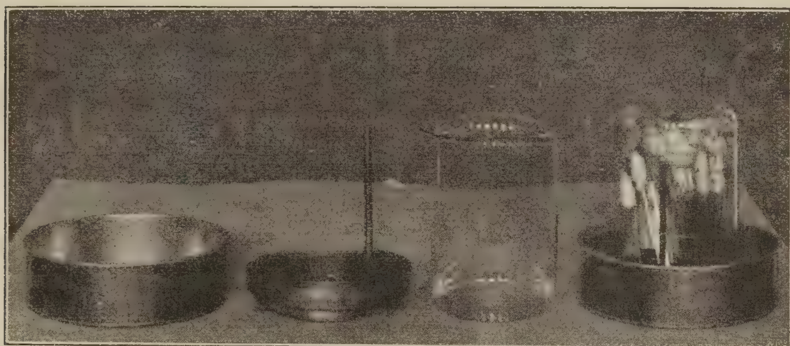
Für Kulturen bei Zimmertemperatur genügt der leicht schmelzbare Mendelejeffsche Kitt, für solche bei Brutwärme, im Thermostaten, empfehlen wir, den Mendelejeffschen Kitt

1 Teil gepulverten Bimsstein,
3,5 Teile Kolophonium

zuzufügen.

Damit der Kitt am Metall besser haftet, ist es zweckmäßig, die Wände des Metallgefäßes vorher mit einer dünnen Schicht Asphaltlack zu überziehen.

Durch den unteren Teil des Kupferuntersatzes des in dieser Weise verschlossenen Apparates führen 3 Röhren. Nach außen ragen die Röhren nur so weit hervor, daß man bequem Gummischläuche daran befestigen kann.



*C* *A* *B* *D*

Das lange Rohr und eines der kurzen dienen zur Gasdurchleitung, das zweite kurze dagegen als eine Art Sicherheitsventil; es trägt ein Stück Gummischlauch, das mit einem zugeschmolzenen Glasrohr verschlossen ist. Unterhalb des zugeschmolzenen Endes des Röhrchens befindet sich eine kleine Oeffnung, die vom Gummischlauch hermetisch umschlossen ist. Sollte in dem Kulturraum eine gar zu starke Gasentwickelung stattfinden, so können die Gase durch die Oeffnung im Glasrohre wohl heraustreten, ohne daß atmosphärische Luft in den Apparat hineingelangen kann. Während der Verdrängung der Luft aus dem Apparate wird das Ventil mittels Schraubenquetschhahn verschlossen gehalten.

Der Apparat wird mit den Gaswaschflaschen durch Gummischläuche verbunden. Nach der Durchleitung des Gases werden die Gummischläuche mit den Schraubenquetschhähnen verschlossen, um während der ganzen Kulturdauer am Apparate zu verbleiben.

Zur genauen Bestimmung des Momentes, wann die atmosphärische Luft aus dem Apparate vollständig verdrängt ist, lassen wir dem Apparat mehrere Gaswaschflaschen folgen, welche Kalilauge und Pyrogallollösung getrennt enthalten. Nach Verlauf einer gewissen Zeit wird die am weitesten vom Apparate befindliche Gaswaschflasche mit Kalilauge

umgekippt, wodurch die Flüssigkeit aus ihr in die Pyrogallollösung der nachfolgenden Flasche gelangt; findet Bräunung der Pyrogallollösung statt, so ist die Luft noch nicht vollständig verdrängt und muß nach einer gewissen Zeit wieder die nächste Flasche mit Kalilauge umgekippt werden u. s. w., bis die Pyrogallollösung während $1/_2$ Stunde lang vollständig farblos bleibt.

Da der nach Beschickung des Apparates mit den Kulturgefäßen freibleibende Raum bis zum Minimum verringert ist, kann die Luft aus ihm ziemlich rasch verdrängt werden. Bei Beschickung des Apparates (Innenraum = 2000 ccm) mit Petri-Schalen und bei ziemlich langsam strömendem Wasserstoffgas gelang es, die Luft nach $1^1/_2$ Stunden vollständig zu verdrängen. Es ist selbstverständlich, daß man nicht vergessen darf, daß bei Beschickung des Apparates mit Reagiergläsern die Wattepfropfen desselben den Gasaustausch bedeutend verlangsamen. In diesem Falle verschließen wir das Gasableitungsrohr eine Zeit lang mit dem Quetschhahn, um den Gasdruck im Apparate zu steigern; infolgedessen dringt das Gas schneller in die Reagiergläser und tritt beim Oeffnen des Hahnes mit Luft vermischt heraus; dieses Verfahren muß mehrere Male wiederholt werden. Das Verstärken des Gasdruckes im Apparate hat zugleich zur Folge, daß der angewandte Nährboden vom Gas gesättigt wird.

Zur vollständigen Isolierung des Innenraumes von der äußeren Atmosphäre wird der Untersatz des Apparates in eine mit Wasser gefüllte verzinnte Rotkupferschale *C* (vergl. auch *D*) gestellt. Das schnelle Verdunsten des Wassers im Brutschranke kann durch eine dünne Paraffinschicht verhindert werden.

Will man den Apparat öffnen, so muß der Verschlußkitt geschmolzen werden; zu diesem Zwecke stellt man den Kupferuntersatz einige Sekunden lang in kochendes Wasser. (Wegen der leichten Explosionsfähigkeit von Wasserstoffluftgemischen darf man die Oeffnung des Apparates natürlich nicht in der Nähe von offenem Feuer vornehmen.) Als Gefäß für kochendes Wasser kann die oben erwähnte Unterschale *C* dienen. Der Kitt wird dabei sehr schnell weich und das Becherglas kann leicht aus der Rinne des Metalluntersatzes herausgehoben werden. Bei dieser Manipulation werden die Gegenstände im Innenraume des Apparates nur schwach erwärmt, namentlich wenn auf dem Boden des Untersatzes eine Asbest- oder Korkplatte sich befindet — jedenfalls haben wir konstatiert, daß die Gelatine in Petri-Schalen unter diesen Umständen nicht schmilzt.

Unser Apparat läßt sich wesentlich billiger herstellen als der Botkinsche.

---



# Ueber den Nachweis der Typhusbakterien im Wasser nach der Methode von Dr. A. W. Windelbandt.

[Aus dem Laboratorium des wissenschaftlichen militär-mediz. Komitees.]

Von Dr. med. **E. Schepilewsky** in Petersburg.

Seit der Entdeckung des spezifischen Mikroorganismus des Typhus abdominalis durch Eberth beschäftigten sich die Epidemiologen aller

Länder eifrig damit, letzteren bei Ausbrüchen von Typhusepidemieen im Wasser zu finden, da damit die höchst wichtige Frage von der Verbreitung der Krankheit durch das Trinkwasser eng verknüpft ist. Zahlreiche diesbezügliche Mitteilungen deuteten darauf hin, daß die Versuche, den Krankheitserreger des Typhus im Wasser zu finden, vielfach von Erfolg gekrönt waren. Leider wissen wir, daß man sich diesen Forschungen gegenüber mit Vorsicht zu verhalten hat, da selbst heute noch die Untersuchungsmethoden äußerst unvollständig sind, in früheren Jahren aber, von wo die meisten Mitteilungen datieren, gar keine Garantie für die Sicherheit der erhaltenen Resultate geben. Außerdem muß man bedenken, daß der Eberthsche Bacillus eine große Aehnlichkeit mit dem Bacterium coli commune besitzt, die differentiale Diagnostik aber zwischen diesen beiden sehr verwandten Mikroorganismen erst in letzter Zeit vollständig möglich geworden ist.

Auch gegenwärtig steht es mit der Bestimmung der Typhusbakterien im Wasser nicht viel besser; wir vermögen freilich beide Arten der Darmflora voneinander zu unterscheiden, doch hängt, da wir keine wirklich zuverlässige Methode besitzen, die Entdeckung des Typhuserregers in jedem einzelnen Falle einer Typhusepidemie, selbst wenn ihr Zusammenhang mit dem Wasser zweifellos ist, von so vielen Zufälligkeiten ab, daß bei der Untersuchung des Wassers eher negative als positive Resultate erreicht werden.

Und doch fehlt es weder an Methoden zur Untersuchung des Wassers auf Typhusbacillen, noch hat es an ihnen gefehlt. Viele von ihnen galten für gut und sehr zuverlässig, und ungeachtet dessen bringt jedes Jahr wieder neue Vorschläge in dieser Hinsicht.

Chantemesse und Widal begannen die Reihe der Untersuchungen des Wassers auf die spezifischen Bakterien des Typhus, indem sie vorschlugen, dem Nährboden Karbolsäure hinzuzufügen, letztere soll das Wachstum der übrigen Wasserbakterien unterdrücken. Vincent, Péré, Pouchet, Holst u. A. veränderten dies und jenes an der Methode von Chantemesse und Widal, hielten sich aber auch an die Karbolsäure.

Späterhin wurde die Karbolsäure durch Salzsäurephenollösung (Parietti), Jodkali (Elsner), Harn (Piorkowski), Krystallviolett (Drigalski und Conradi) etc. ersetzt. Die Bestimmung dieser Flüssigkeiten war dieselbe wie die der Karbolsäure.

Außer den chemischen Reagentien wurde teilweise zum selben Zwecke hohe Temperatur angewandt. Rodet schlug vor, die mit dem verdächtigen Wasser geimpfte Bouillon einer Temperatur von 45° C auszusetzen. Auf diese Weise sollten wenigstens die Gelatine verflüssigenden Bakterien vernichtet werden. Vincent kombinierte die Anwendung von Karbolsäure mit einer hohen Temperatur (42° C). Auch viele andere Autoren schrieben der hohen Temperatur eine gewisse elektive Wirkung bei der Untersuchung des Wassers und anderer Medien auf Typhusbacillen zu, indem sie nicht ohne Grund annahmen, daß viele Saprophyten, deren Wachstum am besten bei der gewöhnlichen Temperatur vor sich geht, sich bei 37—40° C nicht entwickeln.

Leicht kann man sich vorstellen, welches Resultat diese Verfahren, vielleicht mit Ausnahme der gemäßigt hohen Temperatur, bei der Untersuchung erzielen konnten. Wie bekannt, besitzen die Typhusbacillen keine besondere Widerstandsfähigkeit gegen chemische und thermische Agentien; im Gegenteil, sie müssen, besonders in einem für ihr Wachstum so ungünstigen Medium wie das Wasser, erst recht empfindlich gegen schädliche Einwirkungen sein und dieselben während ihres Wachstums in weit größerem Maße fühlen, als gerade diejenigen Saprophyten, von denen man sich zu befreien gedachte.

Ein sehr bedeutendes Hindernis in der Bestimmung des Typhusbacillus im Wasser bildet die Anwesenheit des Bacterium coli commune, das im Verhältnis zum ersteren eine größere Widerstandsfähigkeit den schädlichen Einwirkungen gegenüber und ein besseres Wachstum besitzt. Diesen Eigenschaften des Bacterium coli commune zufolge enden die Versuche, den Typhusbacillus zu isolieren, selbst dann erfolglos, wenn letzterer sich unzweifelhaft in dem zu untersuchenden Material befindet. Dieser Umstand veranlaßte Gimbert in der Pariser Biologischen Gesellschaft zu der

pessimistischen Aeußerung, daß man den Eberth'schen Bacillus im Wasser bei Symbiose mit Bacterium coli commune unmöglich bestimmen könne (1894). Wann wäre dies aber nicht der Fall? könnte man fragen. Ist jemals darauf zu rechnen, daß im Wasser, wohin der Typhusbacillus mit den Dejektionen und dem Harn gelangt, sein sich den äußeren ungünstigen Bedingungen weit leichter anpassender Begleiter nicht vorhanden sei? Natürlich nicht!

Die Unmöglichkeit, das Wachstum der Wasserbakterien zu unterdrücken, ohne zugleich dem des Typhusbacillus zu schaden, war der Grund, weshalb in letzter Zeit zur Entdeckung der Typhusbacillen im Wasser und anderen Medien die einfache Kultur des zu untersuchenden Materials auf Agar angeraten wurde; dabei sollen nur einige Handgriffe angewandt werden, die die Aussicht auf ein erfolgreiches Resultat vergrößern und die Untersuchungstechnik einigermaßen erleichtern (Methode von Drigalski und Conradi). Allein diese Methoden, die schon an und für sich nicht sehr empfindlich sind, können dem Forscher schwerlich in den Fällen genügen, wo das zu untersuchende Material wenig Typhusbacillen enthält.

Ich lasse andere noch weniger zuverlässige Prinzipien beiseite, die einigen Methoden der Untersuchung des Wassers auf Typhusbacillen zu Grunde liegen, z. B. die Prinzipien, die auf der stärkeren Eigenbewegung der Typhusbacillen im Vergleich zum Bacterium coli commune (Cambier), auf der chemotaktischen Wirkung des Saftes roher Kartoffeln (Chantemesse) etc. begründet sind.

Aus diesem kurzen Bericht über die Methoden der Untersuchung des mit Typhusbacillen infizierten Wassers kann man ersehen, daß in dieser Hinsicht die Wissenschaft noch nichts Zuverlässiges ausgearbeitet hat. Dr. Windelbandt überzeugte sich praktisch davon, als er auf Anregung des Privatdozenten J. Raptschewsky die Arbeit übernahm, alle Methoden, die bis dahin vorgeschlagen worden waren, einer strengen Kritik zu unterwerfen. Mit Hilfe sehr weniger Methoden gelang es ihm, hin und wieder positive Resultate zu erzielen, falls er die Bouillonkultur nicht sehr stark mit Wasser verdünnte (nicht mehr als 1 : 100 000). Wenn er stärkere Verdünnungen nahm oder dem Wasser eine bedeutende Quantität der Kultur des Bacterium coli commune beifügte, waren die Resultate negativ, oder im besten Falle konnte er mit einem ungeheuren Aufwand von Mühe und Zeit aus Hunderten von Kolonieen, die den Typhuskolonieen glichen, ganz zufällig einige herausfinden, die sich wirklich als typhöse erwiesen.

Aus der im Mai dieses Jahres (Russky Wratsch. 1902. No. 19) publizierten Mitteilung Windelbandts kann man ersehen, daß zur Isolierung der Typhusstäbchen mit weit größerem Erfolge die von ihm vorgeschlagene Methode dienen kann. Letztere beruht auf der Eigentümlichkeit der Typhusbacillen, durch ein spezifisches Serum agglutiniert zu werden. Leicht begreiflich ist, daß dieses Verfahren, falls es in allen Fällen, die die Praxis bietet, sich als anwendbar erweisen würde, sozusagen das natürlichste wäre, da die eliminierenden Eigenschaften des Typhusserums nur die Typhusbakterien berühren würden, ohne auf alle übrigen einzuwirken.

Schildern wir jetzt dieses Verfahren in der ursprünglichen Art, wie es der Autor in der bezeichneten Nummer des „Russky Wratsch“ vorschlägt:

Der Autor nimmt 1 ccm Wasser, welches mit einer minimalen Quantität der Typhuskultur und mit einer im Vergleich zur ersten weit (5—10—20mal) größeren Menge der Kultur des Colibacterium infiziert ist, und überträgt es auf 10 ccm Bouillon. Solcher Eprouvetten bereitet man mehrere und stellt sie auf 3—5 Tage in den Brütofen, der eine Temperatur von 37° C hat. Während dieser Zeit trübt sich der Inhalt der Probiergläschen infolge des Wachstums der verschiedenen Wasserbakterien und der in die Bouillon übertragenen Kulturen von Typhus- und Colibacterium. Nach Ablauf der oben erwähnten Zeit wird die trübe Bouillon vorsichtig in eine reine sterilisierte Eprouvette

abgegossen, worauf man darauf achtet, daß die Häutchen und Flocken der Bakterien nicht in dieselbe gelangen; die abgegossene Bouillon muß gleichmäßig trübe sein. Hierauf wird stark agglutinierendes Typhusserum zur Bouillon gefügt und die Eprouvette auf einige Zeit in den Brutkasten gestellt. Die agglutinierende Wirkung des Serums auf die Bacillen des Typhus abdominalis zeigt sich sehr bald; es bilden sich in der trüben Flüssigkeit Flocken, die sich teilweise am Boden der Eprouvette absetzen. Falls aber die Zahl der gesuchten Bacillen im Wasser sehr gering ist, kann man makroskopisch keine Flocken bemerken, da dieselben dann eine zu unbedeutende Größe haben. In Anbetracht dessen, aber auch um die agglutinierten Typhusbacillen möglichst zu konzentrieren, wird die Flüssigkeit in der Eprouvette leicht centrifugiert und die trübe Bouillon darauf abgegossen. Der auf dem Boden der Eprouvette zurückgebliebene Niederschlag wird mit einer geringen Menge physiologischer Kochsalzlösung versetzt und gründlich geschüttelt. Nachdem die Flocken der agglutinierten Abdominaltyphusbacillen genügend zerschlagen sind, sät man ein wenig von der so entstandenen Emulsion entweder nach dem gewöhnlichen Plattenverfahren oder vermittelst Bestreichen der Oberfläche des erstarrten Nährbodens auf Gelatine aus.

Hier muß bemerkt werden, daß die Gelatine, die man zu diesem Zwecke gebraucht, auf eine besondere Weise, welche ihren Verflüssigungspunkt erhöht, hergestellt wird. Dieses erreicht man erstens dadurch, daß man den Gehalt an reiner Gelatine im Nährboden bis zu 20 Proz. erhöht, und zweitens, daß man sowohl bei der Zubereitung als auch der Sterilisation derselben lang andauernde Erhitzung vermeidet. Auf solcher Gelatine angelegte Kulturen stellt man in den Brutofen, dessen Temperatur 25—27° C beträgt.

Nach 3-tägigem Wachstum der Typhusbakterien auf diesem Nährboden erkennt man dieselben leicht als zarte, feinkörnige, gelblich-graue, runde Kolonieen oder, falls sie sehr jung sind, als kleine, farblose Tropfen, die Wassertröpfchen gleichen.

Vermittelst dieses Verfahrens gelang es Windelbandt ohne viele Mühe, die Typhusstäbchen aus dem Wasser selbst dann zu isolieren, wenn die Bouillonkultur 10—30 000 000mal verdünnt wurde[1]; dabei wurde das Wasser (gewöhnliches Leitungswasser) noch mit der Kultur des Darmstäbchens sehr stark infiziert.

Dieses Verfahren hat, wie wir aus der Schilderung ersehen können, vor allen übrigen den ungeheuren Vorzug, außerordentlich empfindlich zu sein, weit mehr, als es meiner Meinung nach die Praxis verlangt. Und was besonders wichtig ist, die Typhusbacillen werden keinen sie schwächenden Insulten ausgesetzt, wovon sich jeder leicht durch einfache Versuche überzeugen kann.

Das Einzige, was man an dieser Methode der Untersuchung des Wassers auf Abdominaltyphusbacillen aussetzen könnte, wäre, daß sie 1 Woche Zeit beansprucht. Obgleich diese Frist nicht länger ist als bei vielen anderen Methoden, die bis dahin zur Untersuchung dienten, so wäre es doch wünschenswert, dieselbe zu verkürzen.

Eine von mir gemachte Modifikation dieses Verfahrens beseitigt diesen Mangel und gibt die Möglichkeit, die Untersuchung des Wassers in 2 Tagen zu vollenden.

---

1) In der Sitzung der „Gesellschaft zur Wahrung der Volksgesundheit“ (in Petersburg) erklärte der Autor, daß er aus einer weit größeren, nämlich einer 200 000 000mal großen Verdünnung der Kultur die Typhusstäbchen zu isolieren imstande wäre.

Folgende Modifikation der Methode Dr. Windelbandt's erprobte ich im Laufe eines beträchtlichen Zeitraumes, indem ich den Gehalt an Typhusbacillen im Wasser veränderte und ihn bis zu einem minimalen herabsetzte. Die von mir erhaltenen Resultate zwingen mich zu der Annahme, daß wir wirklich ein außerordentlich empfindliches, zuverlässiges und feines Verfahren, die Typhusbacillen im Wasser zu entdecken, in den Händen haben.

Dieses Verfahren will ich nun in der Art beschreiben, wie ich es bei meinen Arbeiten anwandte:

10—20 ccm unsterilisiertes Leitungswasser, dem eine bestimmte Quantität der Agar- oder Bouillonkultur beigemischt war, wurden mit Hilfe einer Pipette zu 50 ccm Fleischpeptonbouillon in ein kleines Erlenmeyersches Kölbchen gegossen. Die mit dem zu untersuchenden Wasser infizierte Bouillon wurde darauf 24 Stunden lang im Brütkasten einer Temperatur von 37° C ausgesetzt. Nach Ablauf der Zeit war die Bouillon trübe; bisweilen fanden sich auch Flocken und Häutchen vor. Zu weiteren Manipulationen wurde die trübe Bouillon durch ein kleines Stück Watte, das lose in einem Glastrichter steckte, in ein Probierglas filtriert, dessen unteres Ende die Form eines Kegels mit abgerundeter Spitze besaß. Auf diese Art wurde die Bouillon von den verschiedenen Flocken befreit. Darauf goß ich ins Probierglas einige Tropfen stark agglutinierenden Typhusserums, das von einem für Typhusbacillen immun gemachten Kaninchen herstammte. Die agglutinierende Kraft des von mir gebrauchten Serums war so stark, daß bei einer Verdünnung von 1 : 12 000 die Erscheinung der Agglutination sofort eintrat. Von diesem Serum brauchte ich gewöhnlich so viel, daß es durch die Bouillon 1000—1500mal verdünnt wurde. Nach Beifügung des Serums zu der sich in dem kegelartigen Probierglase befindenden Bouillon wurde letztere auf 2—3 Stunden oder sogar kürzere Zeit, falls die Agglutinierung rascher vor sich ging, in den Brutkasten gestellt. Die Agglutination äußerte sich dadurch, daß in der Bouillon Flocken entstanden, von denen viele sich auf den Boden der Eprouvette niederließen. Bei sehr starker Verdünnung der Typhuskultur durch Wasser waren makroskopisch keine Flocken zu entdecken. Ein Betrachten der Eprouvette durch die Lupe hatte oft auch keinen Erfolg. Dessen ungeachtet zeigten sie sich bei der darauffolgenden Manipulation, die in einem leichten Centrifugieren im Laufe von 2 Minuten (800—900 Umdrehungen in 1 Minute) bestand; auf dem Boden des Kegels sammelte sich ein charakteristischer Niederschlag von agglutinierten Bacillen an. Auch wenn man mit unbewaffnetem Auge die Flocken sehen konnte, wurde die Bouillon centrifugiert. Die Flocken sammelten sich dann als ziemlich kompakte Masse an der Spitze des Kegels, wodurch man durch einfaches Umkippen der Eprouvette die übrige Flüssigkeit fortgießen konnte; sehr gut ist es sogar, die Eprouvette einige Zeit in umgekippter Lage zu halten, um der Flüssigkeit die Möglichkeit zu geben, in einen Wattepfropfen abzufließen. Ehe man den Niederschlag auf den Nähragar sät, muß man nach Möglichkeit die Flocken der agglutinierten Typhusbacillen zerschlagen, da sonst, im Vergleich zu anderen nicht agglutinierten Mikroorganismen, auf der Platte sehr wenig Ausgangspunkte wären, von denen das Wachstum ausgehen kann. Zu diesem Zwecke wird mit Hilfe einer Pipette und ein wenig physiologischer Kochsalzlösung der Niederschlag in eine Eprouvette übertragen, in der sich kleine Glaskügelchen befinden, worauf durch möglichst sorgfältiges Schütteln und Klopfen des

Cylinders die Flocken zerschlagen werden. Sobald dieses getan und sich eine gleichmäßige und feine Emulsion gebildet, wird die Kultivierung vorgenommen. Mit einem kleinen Glasstäbchen, dessen unteres Ende etwas abgeflacht und leicht gebogen, der flache Teil aber matt geschliffen ist, berührt man die Oberfläche der Emulsion und zieht auf dem Nähragar, der in Petrische Schalen gefüllt ist, Streifen. Die Streifen müssen auf 3—4 Schalen gemacht werden, indem man folgegerecht von einer zur anderen übergeht. Das Material, das am Stäbchen hängen geblieben, muß ordentlich auf der Oberfläche des Agars der Länge und Breite nach verstrichen werden.

Dem Agarnährboden, der etwas fester als gewöhnlich, nämlich 3-proz., sein muß, fügt man nach der Sterilisation im Autoklaven eine gemischte Lösung von Milchzucker und Lackmoid zu; der erstere zu 1,5 Proz. und das zweite zu 0,04 Proz. Diese Lösung wird separat durch einfaches Kochen im Laufe von 15 Minuten sterilisiert.

Der durch das Lackmoid blau gefärbte Agar wird am besten in Probiergläsern zu 10 ccm bereit gehalten und erst kurz vor dem Gebrauch in die Schalen gegossen. Sobald er erstarrt ist, sorgt man dafür, daß seine Oberfläche trocken wird, wozu man die Schalen einige Zeit lang offen und in umgekippter Lage hält.

Auf einem solchen Nährboden unterscheiden sich die Typhuskolonieen von den übrigen durch ihr zartes Blau, das besonders scharf an den Rändern hervortritt. 24 Stunden nach der Kultivierung erscheinen auf der Oberfläche der Platten rundliche oder ovale, scharf umgrenzte Kolonieen; erst später erhält ihr Rand und ihre Oberfläche das für die Typhuskolonieen charakteristische Aussehen. Schon vorher aber bemerkt man in den centralen Teilen der Kolonie eine Veränderung der Färbung; sie wird schmutzig-gelb mit einem Schimmer ins Grünliche.

In jungen Kolonieen und ebenso in den durch die Nachbarschaft anderer Kolonieen schlecht gedeihenden kann man keine Struktur unterscheiden; sie sind vielmehr Wassertropfen ähnlich, in den kräftigeren dagegen bemerkt man eine feine Körnung.

Diesen Merkmalen nach gelingt es, die Typhuskolonieen von den übrigen zu unterscheiden; die Probe mit der Agglutination giebt die Möglichkeit, sich genauer in ihrer Diagnose zu orientieren.

Das Verfahren ist unzweifelhaft sehr empfindlich und gab glänzende Resultate bei sehr starken Verdünnungen der Typhuskultur. Wenn man z. B. eine kleine Oese[1]) der Agarkultur in 10 000 l Wasserleitungswasser verdünnt, so kann man ohne Mühe die Typhusbacillen wieder isolieren; auch bei einer 10mal größeren Verdünnung (1 Oese auf 100 000 l) konnte ich ohne große Schwierigkeiten die Stäbchen isolieren, obgleich die Kolonieen in diesem Falle infolge des üppigen Wachstums anderer Bakterien manchmal keine besondere Größe erreichten. Wenn man eine Oese (mit einem Durchmesser von 2 mm) einer 1-tägigen Bouillonkultur der Typhusbacillen mit 50 l Wasser versetzt, so kann man noch ziemlich leicht die Typhusbacillen in den Schalen isolieren, dagegen konnte ich dieses bei einer 2mal größeren Verdünnung in den zwei von mir angestellten Versuchen nicht erreichen.

Es ist noch zu erwähnen, daß ich zu meinen Experimenten Typhuskulturen verschiedenen Ursprungs verwandte.

Während ich mit der Prüfung der Methode von Dr. Windelbandt beschäftigt war, publizierte Chantemesse im Juli dieses Jahres im

1) Deren innerer Durchmesser 1 mm groß ist.

Bulletin de l'Académie de médecine. No. 27 sein Verfahren, das auch auf Agglutinieren der Typhusbacillen in dem durch Wasser infizierten Nährboden begründet war. Dieses Verfahren, das sich bloß in einigen unwichtigen Punkten von der eben von mir beschriebenen Modifikation der Methode von Dr. Windelbandt unterscheidet, gab auch Chantemesse befriedigende Resultate. Deshalb kann man wohl mit Recht annehmen, daß das von Dr. Windelbandt zum Grundstein seines Verfahrens gelegte Prinzip wirklich die Entdeckung der Typhusbacillen selbst in den Fällen sichert, wo sie mit Hilfe der früheren Methoden nicht gefunden werden können.

Der einzige Umstand, der diesem Verfahren hinderlich sein könnte, würde darin bestehen, daß das Typhusserum auch einige andere nicht typhöse Bakterien des Wassers agglutiniert. Solche Fälle sind augenscheinlich möglich, besonders bei Benutzung eines schwach agglutinierenden Serums. Bei meinen ziemlich zahlreichen Experimenten habe ich einmal dicke, kurze Stäbchen, die allem Anschein nach keine typhösen waren, agglutiniert gefunden. Aber hier zeigte schon das bloße Aussehen der agglutinierten Bakterien, daß sie einer anderen Gattung angehörten; sie stellten keine lockeren Flocken wie die Typhusbakterien, sondern flache Plättchen dar. Die weitere Untersuchung, das negative Resultat der Agglutinationsprobe der auf Lackmoidagar gewachsenen Bakterien, das Aussehen der Kolonieen selbst und andere Eigenschaften gaben bei der weiteren Forschung genügende Anhaltspunkte für die Differentialdiagnose zwischen ihnen und den echten Typhusbakterien.

$\frac{\text{24. Okt.}}{\text{6. Nov.}}$ 1902.

Anmerkung bei der Korrektur: Dieses Verfahren, die Typhusbacillen im Wasser zu bestimmen, kann hoffentlich auch in anderen Fällen angewandt werden, wo ihre Anwesenheit vorausgesetzt wird, wie z. B. bei Dejektionen, Harn, Abwässern etc. Entsprechende Untersuchungen werden in dem Laboratorium des wissenschaftlichen militärmedizinischen Komitees fortgesetzt.

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

## Inhalt.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

# Ueber ein neues zur Gruppe des Influenzabacillus gehöriges hämoglobinophiles Bakterium („Bacillus haemoglobinophilus canis").

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. Direktor Professor Dr. R. Pfeiffer.]

Von Dr. **E. Friedberger,** Assistenten am Institut.

Mit 1 Tafel
nach 2 von Herrn Prof. R. Pfeiffer angefertigten Photogrammen.

Im Frühjahr vorigen Jahres fand R. Pfeiffer bei Gelegenheit der mikroskopischen Untersuchung des eiterigen Präputialausflusses eines Hundes in mit Fuchsin gefärbten Präparaten winzige Stäbchen in Reinkultur. Dieselben lagen in enormen Mengen in resp. auf Eiterzellen, ohne in den Kern einzudringen, und auf abgestoßenen großen Plattenepithelzellen, sodann aber auch im Schleim, meist zu Nestern angeordnet.

Die Aehnlichkeit der Stäbchen mit dem Erreger der Influenza war unverkennbar, wie das ganze Präparat an das Bild erinnerte, das man von Präparaten typischen Influenzasputums zu sehen gewohnt ist (cfr. Photogr.).

Mein hochverehrter Chef, Herr Prof. R. Pfeiffer, dem ich für die Ueberlassung des Materials zur weiteren Untersuchung und für die Anfertigung der Photogramme zu größtem Dank verpflichtet bin, empfahl mir, ausgehend von der Erwägung, daß es sich hier offenbar um einen dem Influenzabacillus sehr nahestehenden Mikroorganismus handle, zur Züchtung Blutagar zu verwenden.

Der Influenzabacillus gedeiht ja bekanntlich, wie R. Pfeiffer[1]) gezeigt hat, nicht auf den gewöhnlichen Nährböden und üppig nur bei Gegenwart von Hämoglobin.

Es wurden nach sorgfältiger Desinfektion des Orificium praeputii mehrere Oesen des bei leisem Druck am Penis aus dem Praeputium austretenden gelblichen, rahmigen Sekrets in etwas Bouillon verrieben und diese Emulsion auf Agarplatten ausgesät, die vorher mit steril entnommenem Hundeblut bestrichen worden waren.

Zur Kontrolle wurden auch einfache Agarplatten beschickt.

Nach 24-stündiger Bebrütung bei 37° waren die einfachen Agarplatten steril oder zeigten einzelne Kolonieen von Staphylokokken oder plumpen Stäbchen, offenbare Verunreinigungen.

Dieselben fanden sich auch auf den mit Blut bestrichenen Platten. Im übrigen aber waren diese übersät mit winzigen glashellen Kolonieen, die da, wo sie dichter angeordnet waren, die Platte wie betaut erscheinen ließen. Dieselben waren schon nach 18 Stunden sichtbar und erreichten nach 24—30 Stunden den Höhepunkt ihrer Entwickelung mit höchstens Kleinstecknadelkopfgröße. Meist lagen sie isoliert, Neigung zum Konfluieren war nur gering.

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. p. 357.

Auffallend war, daß an den Stellen, an denen die Kolonieen wuchsen, die ursprüngliche Blutfarbe auch bei dick bestrichenen Platten fast völlig geschwunden war.

Unter dem Mikroskop (Vergrößerung 60-fach) erscheinen die Kolonieen kreisrund mit leicht unregelmäßigem Rand; sie sind ganz durchscheinend, meist farblos, selten mit einem Stich ins Gelbliche und besitzen fast homogene Struktur.

Die roten Blutkörperchen, die an den koloniefreien Stellen die Agaroberfläche meist in gleichmäßiger Schicht bedecken, liegen auf den Kolonieen nur in vereinzelten Exemplaren, dagegen in dichterem Kranz um diese herum. Das Bild gewährt so den Eindruck, als ob die Erythrocyten von den auswachsenden Kolonieen nach deren Peripherie gedrängt wären.

Besonders tritt dies an den Stellen hervor, an denen zwei Kolonieen konfluieren; man sieht dann zwischen ihnen einen Wall von roten Blutkörperchen. An Stellen, an denen die Kolonieen besonders dicht liegen, treten die Züge der Erythrocyten zwischen ihnen zu Tage, wie etwa der Erdboden auf einer mit unbehauenen Steinen gepflasterten Straße zwischen diesen.

Die die beschriebenen Kolonieen bildenden winzigen Stäbchen färben sich leicht mit den gebräuchlichen Anilinfarben. Sie erwiesen sich morphologisch als identisch mit denen der Eiterpräparate. Häufig sieht man aber Exemplare, die sich durch einen etwas größeren Längendurchmesser auszeichnen. Das Bakterium färbt sich gleichmäßig, ohne Hervortreten intensiver tingierter Pole; es bildet keine Sporen und besitzt keine Geißeln. Bei der Färbung nach Gram nimmt es die Gegenfarbe an. Eine Bildung von Scheinfäden, wie sie von R. Pfeiffer (l. c.) für den Pseudoinfluenzabacillus angegeben ist, wurde nie beobachtet.

Die Weiterzüchtung dieses Bakteriums gelang auf keinem der gewöhnlichen gebräuchlichen Nährböden und wurde vergeblich auf Agar verschiedenen Reaktionsgrades, Glycerinagar, Zuckeragar, Ascitesagar (1 Teil Ascites auf 2–3 Teile Agar) auf Kartoffel und in Bouillon angestrebt. Da nach Beobachtungen von Graßberger[1]) der Zusatz von Staphylokokken und anderen Bakterien zum Blutnährboden das Wachstum des Influenzaerregers ungemein begünstigt, nach Cantani[2]) sogar ohne Blut ermöglicht (neuerdings von Ghon und Preiss[3]) bestritten), so wurden auch Versuche in dieser Richtung angestellt.

Auf Agar allein, der gleichzeitig mit Staphylococcus pyogenes besät war, trat kein Wachstum unseres Bacillus auf. Aber ich konnte auch auf Blutagar im Gegensatz zum Verhalten des Influenzabacillus keine Wachstumsförderung durch das genannte Bakterium beobachten.

Die Weiterzüchtung gelang zunächst ausschließlich auf Nährböden, die mit Blut versetzt waren. Nur einmal wurde ein sehr spärliches Wachstum auch auf erstarrtem Hammelblutserum beobachtet; es dürfte dies wohl auf einen Uebertritt von Hämoglobin in das Serum bei seiner Abscheidung aus dem Blut zurückzuführen sein. Genügen doch auch, wie das Ghon und v. Preiss (l. c.) nachgewiesen haben, für die Züch-

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXV.
2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. p. 453.
3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. p. 29.

tung des Influenzabacillus schon „solche Mengen von Hämoglobin, welche spektroskopisch ohne Hydracinzusatz nicht mehr nachweisbar sind.“ Darauf ist es auch zurückzuführen, daß auf einfachem Agar zuweilen geringes Wachstum erfolgt, wenn das Material aus einem Blutagarröhrchen direkt übertragen wird. Es genügen alsdann die geringen mitübernommenen Blutmengen, um Wachstum zu erzeugen, eine Erscheinung, die auf einfachem Agar ausbleibt, wenn man nach R. Pfeiffer durch Einbringen der Kulturmasse vor der Weiterverimpfung in Bouillon für eine genügende Verdünnung des eventuell übertragenen Hämoglobins sorgt. Die Ueberimpfung muß etwa alle 8 Tage erfolgen. Am 10. Tage sind nur noch spärliche wachstumsfähige Keime vorhanden. Bei 14 Tage alten Kulturen gelingt eine Weiterzüchtung i. R. nicht mehr.

Die Blutart ist für das Wachstum des Bacillus gleichgiltig. Außer auf Hundeblutagar wurde mit Erfolg auf Agar gezüchtet, der mit Menschen-, Kaninchen-, Meerschweinchen-, Tauben-, selbst Froschblut bestrichen war. Dabei scheint auch eine allmähliche Anpassung an blutfreie Nährböden nicht statt zu haben. Wenigstens sprechen hierfür die Beobachtungen bei einer seit über 3 Monaten auf Taubenblutagar fortgezüchteten Kultur [1]).

Die Kulturen auf schräg erstarrtem Blutagar lassen sich ohne weiteres nicht von denen des Influenzaerregers unterscheiden; auch hier bleibt die Trübung des Kondenswassers in den meisten Fällen aus.

Kulturen in mit geringen Mengen von Blut oder Hämoglobinlösung (nach der von R. Pfeiffer l. c. beschriebenen Methode bereitet) versetzter Bouillon zeigen nach 24-stündigem Wachstum Suspension weniger Flöckchen in fast klarer Flüssigkeit und einen reichlichen lockeren Bodensatz, der beim Schütteln in kleinsten Klümpchen aufsteigt und die Bouillon gleichmäßig trübt. Auffallend ist auch hier, daß selbst bei reichlichem Zusatz von Blut resp. Hämoglobin die rote Farbe des Nährsubstrates nach 24-stündigem Wachstum nahezu vollkommen verschwunden ist. Mikroskopisch liegen die Bakterien der Bouillonkulturen meist in Häufchen, seltener isoliert oder in kurzen Fäden.

Gegenüber den Bakterien in gefärbten Präparaten von Agarkulturen erscheinen sie nach der Färbung etwas gequollen.

R. Pfeiffer hat bereits bei der Züchtung des Influenzabacillus den Gedanken erwogen, „daß der Eisengehalt des Hämoglobins das wirksame Prinzip sein möchte“ und die Hoffnung ausgesprochen, daß ein Eisensalz gefunden werden könnte, das das Hämoglobin zu ersetzen im stande wäre.

Eine derartige Eisenverbindung steht für den Influenzabacillus bislang immer noch aus, und es war nicht gerade zu erwarten, daß bei den übrigen Analogien der Hundebacillus sich anders verhalten solle, obwohl er in Bezug auf Hämoglobin anspruchsloser zu sein schien als der Influenzaerreger, indem er noch üppig bei Zusatz von minimalen Blutmengen gedieh, bei denen ein Influenzastamm von sonst annähernd gleicher Wachstumsenergie nur spärlich wuchs.

Ich hatte zu anderen Zwecken Ferratinagar bereitet (Zusatz von

---

1) Anmerkung bei der Korrektur: Diese Kultur ist weitergezüchtet worden und hat bis jetzt (nach 6 Monaten) ihr charakteristisches Verhalten gegenüber den Nährböden noch nicht eingebüßt.

0,5 Proz. Ferratin [Schmiedeberg]) zu dem sterilisierten gelösten Pepton-Fleischwasseragar; nach Abfüllen in Röhrchen nochmals 15 Minuten im Dampftopf sterilisieren. Das dabei ausfallende dunkelbraune Ferratin wird durch Schütteln gleichmäßig verteilt und bleibt beim Erstarren gleichmäßig im Agar eingeschlossen.)

Auf diesen Nährboden wurde gleichzeitig eine Emulsion von annähernd der gleichen Menge Influenza- resp. Hundebacillen gebracht. Nach 48 Stundeu war auf dem mit Influenza geimpften Röhrchen keine Spur von Wachstum; dagegen war auf dem mit den Hundebacillen beschickten Ferratinnährböden ein allerdings sehr spärliches, aber doch merkbares Wachstum zu beobachten. Mikroskopisch zeigten die Bakterien geringe Involutionserscheinungen. Die Möglichkeit, bei einem ausgesprochen hämoglobinophilen Bakterium auf einem Eisenalbuminatboden Wachstum zu erzielen, ruft die von R. Pfeiffer ausgesprochene Hoffnung wieder wach, auch für den Influenzabacillus „durch systematische Experimente mit Eisensalzen einen Nährboden zu finden, welcher gestattet, von dem immerhin umständlich herzustellenden Blutagar abzusehen.“ Für das Ferratin hatte übrigens bereits früher M. Richter[1]) die Unbrauchbarkeit zur Züchtung des Influenzabacillus nachgewiesen.

Bei 22° erfolgt selbst bei tagelanger Bebrütung kein Wachstum des Hundebacillus.

Unter Sauerstoffabschluß (in Wasserstoffatmosphäre) wurde gleichfalls (bei 37°) keine ausgesprochene Entwickelung wahrgenommen.

Der Präputialbacillus scheint bei Hunden ungemein verbreitet zu sein, ich fand ihn bei 6 darauf untersuchten ausgewachsenen Hunden der verschiedensten Rasse des Königsberger Tiergartens und bei etwa der doppelten Zahl von Hunden, die ich in der hiesigen Tierklinik zu untersuchen Gelegenheit hatte[2]). Nur bei einem Hund mißglückte der mikroskopische und kulturelle Bacillennachweis.

Nach der Erfahrung einer Reihe von Tierärzten ist der Ausfluß bei Hunden sehr häufig und gilt allgemein für harmlos. Ueber die Dauer konnte ich nichts näheres erfahren. Ein Versuchshund des Instituts hat die Erscheinungen während einer Beobachtungsdauer von fast 1 Jahr konstant, mit allerdings wechselnder Intensität. Während dieser Zeit waren auch die beschriebenen Bakterien ständig in großer Menge und in Reinkultur nachzuweisen.

Bei jungen Hunden scheint der Fluor zu fehlen, wenigstens konnte ich bei 2 jungen, etwa 2 Monate alten Dachshunden kein Sekret exprimieren und kulturell nichts nachweisen. Ein dritter, ca. 4 Monate alter Hund hatte starken eiterigen Ausfluß, dieser war aber frei von Bakterien.

Bei 2 von diesen 3 Tieren wurden Uebertragungsversuche vorgenommen, jedoch ohne Erfolg. Es wurde zunächst eine Nadelspitze von einer 24-stündigen, frisch aus dem Körper gezüchteten Kultur an der Innenfläche des Präputiums und im Orificium urethrae verrieben und nach wenigen Tagen eine ganze Oese entsprechenden Materials. Bei dem mit eiterigem Ausfluß behafteten Tier konnten nach einigen Tagen die Bakterien nicht nachgewiesen werden, ebensowenig bei dem geimpften Dachshund. Auch die spätere Injektion einer größeren Menge

1) Wien. klin. Wochenschr. 1894.

2) Für die Ueberlassung dieses Materials bin ich dem Herrn Claassen, Direktor des Königsb. Tiergartens, und Herrn Corps-Roßarzt Pilz zu Dank verpflichtet.

einer frischen Bouillonaufschwemmung in den Präputialsack und das Orificium urethrae blieb ohne Erfolg.

Ferner wurde einer etwa 1-jährigen, noch nicht belegten Fox Terrier-Hündin in die Vagina 1 Oese des Präputialbacillus geimpft. Nach 8 Tagen konnten kulturell noch einige Bacillen nachgewiesen werden. Eine Vermehrung der Bakterien und das Auftreten eines Ausflusses blieb aber auch später aus.

Ob diese auffallende Erscheinung an der Unempfänglichkeit junger Tiere für das betreffende Bakterium liegt, will ich nicht entscheiden; leider standen mir zur Zeit ausgewachsene Tiere ohne primären Fluor nicht zur Verfügung.

Ich möchte aber auf Grund dieser und der folgenden Tierversuche der Vermutung Raum geben, daß der Bacillus möglicherweise gar nicht der Erreger des Fluors ist, sondern nur ein im Präputialsekret sich findender harmloser Mikroorganismus.

Offenbar kommt dem Bacillus eine nennenswerte Pathogenität nicht zu. So wurde z. B. von einem mittelgroßen Hund die intratracheale Injektion einer ganzen Agarkultur in Bouillon aufgeschwemmt, ohne sichtbare Krankheitserscheinungen von Seite der Lungen überstanden.

Auch Impfungen in die Konjunktiva ohne und mit vorherigen Lädierungen der Schleimhaut wurden ohne Reaktion ertragen.

Ebenso waren, wie nach dem Vorhergehenden nicht anders zu erwarten, Impfungen in das Präputium von Meerschweinchen und Kaninchen erfolglos.

Auf die intravenöse Injektion einer Aufschwemmung von 3 Agarkulturen in Bouillon reagierte ein 1670 g schweres Kaninchen nur mit einer 3 Stunden nach der Injektion auftretenden Temperatursteigerung von 2,4 $^0$ über die normale (40,8 $^0$ gegen 38,4 $^0$).

Ein Meerschweinchen von 200 g Gewicht starb nach intraperitonealer Injektion der gleichen Menge in etwa 24 Stunden. Aus dem Peritonealexsudat waren noch Bakterien zu züchten, doch war schon, durch Entnahme mit Glaskapillaren von der 2. Stunde ab eine Abnahme der injizierten Bakterien zu beobachten, die bis zum Exitus des Tieres fortschritt.

Aehnlich war das Resultat bei Injektion von $^1/_2$—1 Agarkultur an weißen Mäusen.

Eine Taube ertrug die intravenöse Injektion einer Agarkultur, ohne Krankheitserscheinungen zu zeigen.

Nach diesen Resultaten erschien die Anstellung weiterer Tierversuche zwecklos.

Seit der Entdeckung des Influenzabacillus sind eine Reihe von influenzaähnlichen Bakterien bei verschiedenen menschlichen pathologischen Prozessen beschrieben.

Sich mit der morphologischen Aehnlichkeit allein, vor allem was die winzigen Maßverhältnisse anbelangt, als Kriterium der Zugehörigkeit zur Gruppe des Influenzabacillus zu begnügen, wie das Frank[1]) neuerdings tut, ist nicht angängig. Es muß vor allem die weit charakteristischere Eigenschaft der Hämatophilie gefordert werden.

In diesem Sinne hat bereits R. Pfeiffer (l. c.) in der Gruppe des Pseudoinfluenzabacillus eine verwandte Art beschrieben. Durch ihre Größenverhältnisse und die Neigung zur Scheinfädenbildung unter-

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. p. 88.

scheiden sie sich von unserem Bacillus, ebenso wie der Spenglersche Pertussisbacillus[1]).

Auch der Bacillus der Kinderbronchiopneumonie von Meunier[2]), den dieser Autor für identisch mit dem Influenzabacillus hält, ist es sicher nicht. Er ist von diesem ebenso wie vom Hundebacillus durch seine hohe Pathogenität für Kaninchen und durch sein Vorkommen im Venenblut genügend differenziert.

Schließlich haben noch Jochmann und Krause[3]) einen wohl mit dem Spenglerschen identischen hämoglobinophilen Bacillus („Bacillus pertussis Eppendorf") als Erreger des Keuchhustens beschrieben.

Eine weitere Gruppe von ihren Entdeckern hierher gerechneter Bakterien besitzt die Eigenschaft der Hämoglobinophilie nur in beschränktem Grade und stellt in gewissem Sinne den Uebergang zu den nicht hämoglobinophilen Arten dar. Man kann diese vielleicht im Gegensatz zu den beschriebenen „obligat" hämoglobinophilen als „fakultativ" hämoglobinophile bezeichnen.

So fand Jundel[4]) bei 3 von 30 untersuchten Fällen von akuter Bronchitis einen influenzaähnlichen „Bacillus catarrhalis", der außer auf Blutagar auch auf Serumnährböden, auf einfachem Agar aber nur in Symbiose mit anderen Bakterien gedieh.

Elmassian[5]) beschrieb einen bei Keuchhusten, Lungentuberkulose und Pneumonie isolierten kleinen Bacillus, der auf Blut und auch auf Nährböden mit serösen Flüssigkeiten, wie auf einfachen Agarböden gedieh.

Die gleichen Eigenschaften kommen dem von Luzzato[6]) bei Keuchhusten gefundenen, wahrscheinlich mit dem vorigen identischen „Bacillus minutissimus sputi" zu.

Später und unabhängig von uns hat Wolff (cfr. die folgende Arbeit) aus einer Ratte ein Bakterium isoliert, das anfangs sich als hämoglobinophil erwies, das aber im Laufe der Zeit sich auch an einfachen Agar gewöhnte.

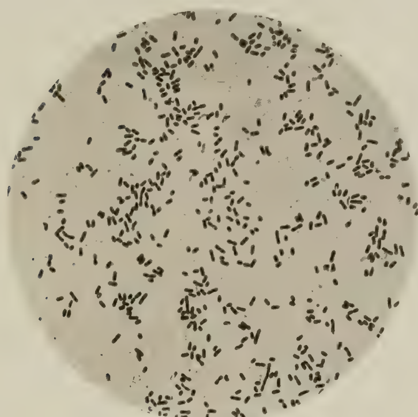
Von diesen partiell hämoglobinophilen Bakterien ist unser Bacillus sicher durch seinen ausgesprocheneren Anspruch an Hämoglobingehalt des Nährbodens verschieden.

Mit dem Influenzabacillus aber gehört er zweifellos in eine Gruppe, unterscheidet sich aber doch durch morphologische Abweichungen und das geringe Wachstum auf Ferratinagar von ihm. Es dürfte bei Nachforschung in dieser Richtung zweifellos gelingen, noch weitere Unterscheidungsmerkmale zwischen beiden Arten aufzudecken.

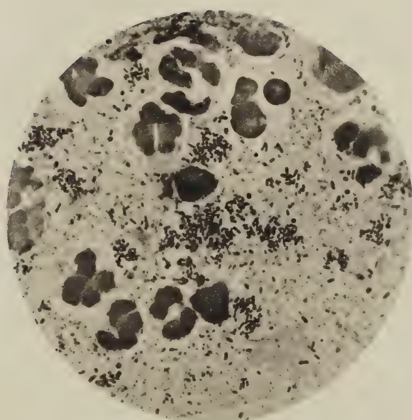
Der beschriebene Bacillus ist der erste in die Gruppe des Influenzabacillus gehörige Mikroorganismus, der im Tierkörper gefunden wurde. Ich möchte für ihn den eingangs erwähnten Namen „Bacillus haemoglobinophilus canis" vorschlagen.

---

1) Deutsche med. Wochenschr. 1897. No. 25.
2) Arch. génér. de méd. 1897. p. 129.
3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. p. 193.
4) Hygiea. Bd. LX. No. 6 u. 7.
5) Ann. Inst. Past. Bd. XIII. p. 621.
6) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVII. p. 187.



1 b.



1 a.



2.

Vergr. 1 : 1000.

1 a) Anstrichpräparat vom Praeputialsekret eines Hundes mit B. haem. canis (Friedberger).
1 b) B. haemoglobinophilus canis (Friedberger) in Reinkultur.
2) Influenza ähnlicher Bacillus (Wolff) in Reinkultur.

*Verlag von* **Gustav Fischer** *in* **Jena.**

Crayondruck von J. B. Obernetter, München.

# Ueber einen beim Tier gefundenen influenzaähnlichen Bacillus.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Königsberg i. Pr. Direktor Prof. Dr. R. Pfeiffer.]

Von Dr. **Alfred Wolff,** Assistenten am Institute.

Mit 1 Tafel.

Jedesmal, wenn von der bakteriologischen Forschung ein Mikroorganismus aufgefunden wurde, der sich durch seine Eigenschaften von allen bis dahin bekannten sehr wesentlich unterschied, wurden kurze Zeit darauf andere Bakterien entdeckt, welche zu den ersteren in nahen verwandtschaftlichen Beziehungen standen. Zu den Diphtheriebacillen kamen die Pseudodiphtheriebacillen, zu den Tuberkelbacillen die große Gruppe der säurefesten Bakterien, zu den Typhus- und Coli-Bacillen die Paratyphus- und Paracolistämme etc.

Es ist deshalb falsch, ein besonders hervorstechendes Merkmal eines neugefundenen Bacillus als eine Art chemischer Identitätsreaktion anzusehen; wie neuere Untersuchungen zeigen, sind nicht einmal alle säurefesten Bacillen des Sputums Tuberkelbacillen, wie es lange Jahre von den Klinikern ganz allgemein angenommen worden ist.

Der Influenzabacillus schien in gewissem Sinne eine Ausnahmestellung einzunehmen. Seine Epidemiologie zeigte Sonderheiten, sein biologisches Verhalten wich von den Lebenseigentümlichkeiten der sonst uns bekannten Mikroorganismen ab. Da alle Bakterien, welche zu der Influenzabacillengruppe gestellt wurden, von den Jochmannschen, Kruseschen und Spenglerschen Bacillen abgesehen, diese Stellung, wie wir gleich begründen wollen, nicht mit Recht einnahmen, und da beim Tier bisher überhaupt influenzaartige Bakterien noch nicht beschrieben worden sind, so dürfte daher die Mitteilung über einen beim Tiere gefundenen influenzaartigen Bacillus einiges Interesse haben.

Der Influenzabacillus ist charakterisiert durch seine Kleinheit, durch seine Hämophilie, d. h. das Unvermögen, auf nicht hämoglobinhaltigen Substraten sich zu entwickeln, und drittens durch seine große Labilität, d. h. den Verlust der Ueberpflanzbarkeit, wenn die Ueberimpfung nicht alle 2—12 Tage erfolgt, nach R. Pfeiffer variiert diese Zeit nach der Güte des Nährbodens.

Am charakteristischsten für den Influenzabacillus ist die Hämophilie, die Kleinheit findet sich auch bei anderen Bacillen (s. w. u. den Frankschen), die Labilität ist sehr charakteristisch, da sie bei anderen Bacillen noch nicht beobachtet worden ist, sondern nur bei Kokken: Gonokokken, Meningokokken und Pneumokokken.

Um einen Bacillus zur Influenzagruppe rechnen zu können, ist also das Zusammentreffen einer Reihe biologischer Eigenschaften notwendig; die Kleinheit eines Bacillus als hinreichend zu betrachten, um ihn als „influenzaähnlich“ zu bezeichnen, wie es neuerdings Frank getan hat, ist also völlig unberechtigt (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XL. Heft 2). Der Franksche Bacillus, der Tierpathogenität besitzt, wächst in Bouillon auf gewöhnlichem Agar und auf Gelatine (!), färbt sich, im Gegensatze

zu den Influenzabacillen, nach Gram, die Bacillen bleiben mehrere Wochen bis Monate (!) übertragungsfähig.

Von all den zahlreichen zur Influenzagruppe gerechneten Bakterien gehören nur hierhin der von R. Pfeiffer entdeckte Pseudoinfluenzabacillus, ferner die von Jochmann und Kruse in 18 von 31 Fällen bei Keuchhusten gefundenen Kurzstäbchen (Bac. pertussis Eppendorff) (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXVI. p. 193), ferner der Spenglersche hämophile, als Erreger des Keuchhustens beschriebene Bacillus.

Der Pseudoinfluenzabacillus war seiner Zeit auf Grund morphologischer Verschiedenheiten vom Influenzabacillus getrennt worden; im Laufe der Zeit haben sich diese Unterschiede mehr und mehr verwischt, und auch sein Entdecker denkt an die Möglichkeit der Identität beider Bakterien. Ebenso ist die Stellung der Keuchhustenbakterien noch nicht präzisiert und es muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß hier nur eine Sekundärinfektion mit Influenzabacillen vorliegt, also die Keuchhustenbacillen ebenfalls mit den Influenzabacillen identisch sind.

Als sehr auffällig muß die Tatsache bezeichnet werden, daß der Influenzabacillus und alle zu der Gruppe gehörigen Bakterien nur beim Menschen gefunden wurden. Man könnte leicht auf den Gedanken kommen, das Vorkommen der Influenzagruppe sei auf den Menschen beschränkt, wenn dieser Annahme nicht von vornherein widerspräche, daß die Influenzagruppe zu ihrem Wachstume nur Hämoglobin, ganz gleich von welcher Tierspecies, notwendig hat.

Wenn es als sicher zu betrachten ist, daß eine Anzahl von Bakterien zu Unrecht den Influenzabacillen zugerechnet worden ist, ist die Entscheidung dieser Frage im vorliegenden Falle schwieriger. Es handelt sich um einen influenzaähnlichen Bacillus, der bei Gelegenheit anderer Untersuchungen durch Zufall entdeckt wurde. Bei Versuchen, ein Choleratoxin zu gewinnen, war eine wilde Ratte mit der toxinhaltigen Flüssigkeit subkutan geimpft worden. Sie starb nach 4 Tagen. Bei der vorgenommenen Sektion zeigten Milz, Leber, Peritoneum makroskopisch, mikroskopisch und kulturell keinen Befund (abgesehen von der allgemeinen Atrophie). Dagegen waren die Bronchien lebhaft gerötet und mit serösem schleimig-eiterigen Sekrete erfüllt. In Ausstrichpräparaten fanden sich kleinste Stäbchen in Reinkultur, die morphologisch von Influenzabacillen nicht zu unterscheiden waren. Die Lunge wurde über Agar ausgestrichen; in Kultur fanden sich wieder die feinen Stäbchen, zusammen mit Staphylokokken; von hier gelang dann die Gewinnung von Reinkulturen.

Der Befund scheint dafür zu sprechen, daß den gefundenen Kurzstäbchen eine ätiologische Bedeutung für die mitgeteilten pathologischen Veränderungen der Lunge zukommt.

Morphologie. Wie schon erwähnt, glichen die Bakterien an der Fundstelle sehr den Influenzabacillen. Nach einigen (3—4) Ueberimpfungen trat eine außerordentliche Neigung zur Scheinfadenbildung hervor. Alle Einzelindividuen vereinigten sich zu Fäden, die so eng aneinanderschlossen, daß die einzelnen Bacillen nicht zu differenzieren waren. Das mikroskopische Präparat präsentierte sich als ein Wirrnis, aus lauter feinsten Fäden bestehend. Nach 4 Monate währender Weiterzüchtung trat die Scheinfadenbildung wieder mehr in den Hintergrund und der Bacillus ähnelte morphologisch wieder sehr dem Influenzabacillus resp. dem Pseudoinfluenzabacillus. Der Bacillus ist unbeweglich, enthält keine Sporen und keine Babes-Ernstschen Körnchen,

färbt sich mit allen gebräuchlichen Anilinfarben, jedoch nicht nach Gram.

Kulturelle Eigenschaften. Der Bacillus brauchte, dem Tierkörper entnommen, zu seinem Wachstum Hämoglobin, er wächst daher nicht auf Agar, Glycerinagar, Ascitesagar und Serum, jedoch bedarf er nur so wenig Hämoglobin zu seiner Entwickelung, daß man, um Täuschungen zu vermeiden, nicht direkt vom Blutagar auf das zu prüfende Nährsubstrat überimpfen darf, da das hierbei übertragene Blut zur Entwickelung hinreichen und ein Wachstum auf hämoglobinfreiem Nährboden vortäuschen kann. Dieselbe Vorsicht muß man übrigens auch bei den echten Influenzabacillen beachten.

Von ganz frischen Kulturen gelingt es, in Bouillon Wachstum zu erzielen, von 4—5 Tage alten Kulturen jedoch nicht mehr; eine Weiterzüchtung in Bouillon ist erfolglos.

Der Bacillus entwickelt sich gut bei 37°, wächst nicht bei 22°, andere Temperaturen wurden nicht geprüft.

3 Monate hindurch hatte der Bacillus bei jeder der alle 3 Tage vorgenommenen Ueberimpfungen sich stets als hämophil gezeigt, derart, daß die Kulturen auf Agar nicht angingen. Aus äußeren Gründen konnten dann während 2 Monaten keine Kontrollprüfungen vorgenommen werden; als diese nach 5 Monaten wieder angestellt wurden, zeigte sich die merkwürdige Tatsache, daß jetzt die Bacillen auf gewöhnlichem Agar angingen; es liegt hier keine Verwechselung mit irgend einer Verunreinigung vor, da eine von Král in Prag fortgezüchtete Kultur ein gleiches Verhalten zeigte. Auch sonst hatten sich die biologischen Eigenschaften des Bacillus verändert; die anfangs im ausgesprochensten Maße vorhandene Labilität hat sich so vermindert, daß man die Kultur noch nach 14 Tagen überimpfen kann. Es gelingt jetzt auch, die Bakterien auf Agar weiterzuzüchten. Nach 10—15 Ueberimpfungen war jedoch die Kultur bisher nicht mehr wieder auf Agar züchtbar.

Wir müssen annehmen, daß bei Weiterzüchtung auf künstlichen Nährsubstraten unser Bacillus eine Veränderung erlitten hat, für welche bisher Analoga in der Bakteriologie fehlen. Doch sei hier noch einmal an die weiter oben gemachte Angabe erinnert, daß es schon in den ersten Monaten gelang, in Bouillon ein Anwachsen zu erzielen, allerdings nur für eine Generation, da eine Weiterübertragung auf nicht bluthaltige Nährmedien stets ohne Erfolg blieb. Doch läßt uns diese Eigenschaft, die dem Influenzabacillus fehlt, es verständlich erscheinen, daß bei Weiterzüchtung auf künstlichen Nährböden eine Anpassung an hämoglobinfreie Nährsubstrate eintreten konnte.

Aussehen der Kolonieen und sonstige biologische Eigenschaften. Die Größe der Kolonieen wechselt je nach der Dichtigkeit des Wachstums; die kleinsten Kolonieen sind ungefähr so groß wie eine Stecknadelspitze und sind völlig glashell, so daß sie nur bei günstigem Lichteinfall gesehen werden können; diejenigen, welche genügend Spielraum zur Entwickelung hatten, erreichen fast Erbsengröße, sind auch völlig transparent, doch opaleszieren sie ziemlich stark. Versucht man abzuimpfen, so bemerkt man, daß die Kolonieen eine schleimige Masse von ziemlich zäher Konsistenz bilden.

Besonders erwähnenswert ist dann noch die außerordentliche Labilität der Kulturen; die Ueberimpfungen müssen alle 5—6 Tage erfolgen, nach 9—10 Tagen geht schon meist nichts, bisweilen 1—2 Kolonieen

auf, nach 12—20 Tagen war Wachstum in den ersten 3 Monaten nicht mehr zu erzielen.

Tierversuche. Die Pathogenität des neuen hämophilen Bacillus ist im Experimente eine sehr geringe; Ratten, welche mit dem Bacillus gefüttert wurden oder subkutan, intratracheal, selbst intrapulmonal und intraperitoneal infiziert wurden, starben zwar in allen Fällen, doch ließ sich der Bacillus in den Organen der Tiere nicht nachweisen; wir dürfen nicht einmal mit Sicherheit auf toxische Eigenschaften uns berufen, da wilde Ratten fast ausnahmslos bei uns auch ohne Infektion in wenigen Tagen zu Grunde gingen.

Ebenso fielen die Versuche, Meerschweinchen durch Verfütterung, subkutane oder intraperitoneale und intratracheale Injektion zu infizieren, negativ aus. Aus dem Peritonealexsudat kann man bei diesen Versuchen den Bacillus wieder in Reinkultur gewinnen, die Vernichtung der Bakterien geht nur langsam vor sich (in ca. 72 Stunden). Ueber die hierbei sich abspielenden morphologischen Vorgänge im Peritonealraume will ich an anderer Stelle Näheres mitteilen.

Daß dem Bacillus eine gewisse Toxizität zukommt, ergibt sich aus einem Versuche, bei dem einem Kaninchen von 2190 g Gewicht 2 in 0,6-proz. Kochsalz aufgeschwemmte Agarkulturen intravenös injiziert wurden. Nach 1 Stunde zeigte das Tier starke Dyspnoë, die auch in den nächsten Tagen auftrat, sowie das Tier die geringste Bewegung macht. Es verhält sich daher ganz still und macht nicht einmal auf der Erde Versuche, fortzulaufen, wenn es geschlagen wird. An den Hinterbeinen sind lähmungsartige Erscheinungen (Paresen) zu beobachten; die Hinterbeine werden oft minutenlang in forzierter Abduktionsstellung gehalten. Die Temperatur verhielt sich, wie folgt:

| | | |
|---|---|---|
| Temperatur vor der Injektion | 38,2 | Gewichtsverlust 200 g |
| „ 4 Stunden nachher | 37,7 | |
| „ 16 „ „ | 39,7 | |
| „ 40 „ „ | 38,7 | |
| „ 48 „ „ | 39,3 | |
| „ 60 „ „ | 39,0 | |

Positiv fielen die Versuche nur bei Mäusen aus, bei denen es gelang, die betreffenden Bacillen in allen Organen in Reinkultur nachzuweisen. Doch müssen diese Resultate sehr skeptisch aufgefaßt werden, da eine intraperitoneale Infektion mit einer Oese bei einer Maus eine Ueberschwemmung mit Bakterien vorstellt. Die Mäuse starben innerhalb 24 Stunden an Sepsis. Es sei eins der völlig gleichlautenden Sektionsprotokolle mitgeteilt.

Weiße Maus, intraperitoneal infiziert mit einer Oese vom hämophilen Bacillus, † innerhalb 24 Stunden.

Makroskopischer Befund. Es ist etwas seröses Peritonealexsudat vorhanden, Organe zeigen keine Veränderung.

Mikroskopischer Befund. In allen Organen finden sich einzeln liegende, feinste Stäbchen, sie sind am zahlreichsten in der Peritonealflüssigkeit, ziemlich zahlreich in der Lunge, spärlich im Herzblut, vereinzelt in der Milz.

Bakteriologischer Befund. Aus allen Organen wird der hämophile Bacillus in Reinkultur gewonnen.

Die Versuche, experimentell eine Tierpathogenität nachzuweisen, sind als fehlgeschlagen zu betrachten; es wäre dieser Nachweis um so wichtiger gewesen, als es bisher mit dem Influenzabacillus bei den ge-

bräuchlichen Laboratoriumstieren nicht gelungen ist, eine Tierinfektion[1]) zu erzielen. Da es auch Friedberger nicht gelungen ist, seinen in der vorigen Arbeit beschriebenen hämophilen Bacillus, der sich bei allen bisher untersuchten erwachsenen Hunden fand, auf junge Hunde mit Erfolg zu übertragen, so sind wir, da wir nicht mehr annehmen können, daß das Vorkommen influenzaartiger Bakterien an den Menschen geknüpft sei, zu dem Schlusse gezwungen, daß das Zustandekommen einer Infektion an uns zum Teil unbekannte Verhältnisse geknüpft sei. In unserem Falle wäre an die Schädigung zu denken, welche das Tier durch die Toxininjektion erlitten hatte.

Kurz zusammengefaßt, liegt die Bedeutung dieser Beobachtungen in der Feststellung, daß auch beim Tiere influenzaartige Bakterien vorkommen können. Da einige Monate vorher Friedberger ebenfalls einen zu dieser Gruppe gehörigen Bacillus beim Hunde aufgefunden hat (siehe die vorstehende Arbeit), drängt sich von selbst der Gedanke auf, daß die Gruppe der hämophilen Bacillen vielleicht eine größere ist, als man bisher annahm. Beim Suchen nach neuen Krankheitserregern wird man stets die Möglichkeit in Betracht ziehen müssen, daß er zu dieser Gruppe gehört.

Von dem echten Influenzabacillus ist unser Bacillus morphologisch zu unterscheiden, am nächsten steht er seiner Form nach dem Pseudoinfluenzabacillus (cf. die Tafel). Da wir gesehen haben, wie gering bei dieser Gruppe morphologische Unterschiede geschätzt werden müssen, und da eine Reaktion, welche nach Art des Pfeifferschen Phänomens eine Identifizierung gestattet, leider nicht existiert, ist seine Stellung im System zur Zeit nicht genauer zu präzisieren.

Von dem Influenzabacillus unterscheidet er sich noch dadurch, daß bei ihm nach mehrmonatlicher Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden ein Wachstum auf gewöhnlichem Agar auftritt, ein Vorkommnis, das bei echter Influenza noch nie beobachtet wurde. Trotzdem möchte ich ihn als Verwandten der Influenzagruppe ansehen, und zwar wegen seiner morphologischen Eigenschaften, seiner geringen Pathogenität, seiner anfangs in ausgesprochenstem Maße vorhandenen Labilität und wegen seiner in den ersten 3 Monaten gezeigten Eigenschaft, nur auf hämoglobinhaltigen Nährmedien zu wachsen. Daß er nach längerer Fortzüchtung auf künstlichen Nährsubstraten andere Eigenschaften angenommen hat, darf nach den vielfachen Beobachtungen über Veränderungen der Eigenschaften der Bakterien auf künstlichen Nährböden seine Stellung im System nicht ändern.

Meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. R. Pfeiffer, danke ich für die Unterstützung, die er mir bei dieser Arbeit zu teil werden ließ, speziell noch für die liebenswürdige Anfertigung des Mikrophotogrammes.

1) Bekanntlich ist es R. Pfeiffer bei Affen gelungen, eine typische Infektion zu erzeugen; bei anderen Tieren zeigen sich nur Intoxikationserscheinungen.

# Untersuchungen von Wasserläufen in China.

Von Oberarzt Dr. **Georg Mayer** in Würzburg.

Während meiner Zugehörigkeit zum ostasiatischen Expeditionskorps als Vorstand der hygienischen Station für die deutschen Truppen zuerst in Peking, später in Shanghai verwandt, hatte ich der Wasserfrage ein besonderes Augenmerk zuzuwenden; daher wurden, soweit dies nebenher möglich war, Untersuchungen auch über die Verunreinigung von Wasserläufen angestellt.

Im Gebiete des Shaho entspringt beim Tore Pa-ta-ling der großen Mauer ein Quellzufluß des Pei-shaho, der den Nankou-Paß durchläuft. An der in einer engen Felsschlucht gelegenen Ursprungsstelle ist eine Verunreinigung unmöglich, ebensowenig bei einer vor der Paßsperre Dshü-yung-guan aus Felsen an der Straße sprudelnden Quelle, trotzdem fand sich in beiden eine wenn auch niedrige Zahl indifferenter Keime. Der Bach selbst überschreitet mehrmals die Paßstraße, fließt an verschiedenen kleinen Orten vorüber, von Nankou bis Shaho-tschöng läuft er zur trockenen Jahreszeit mit schmaler Rinne in einem breiten Geröllbett, längs der Ufer wenige Häuser; er empfängt einen in tiefen Lößeinschnitten bei Niën-tu-tsun vorüberfließenden, vom nahen Gebirge kommenden Bach und einen weiteren, der bei Sha-tun einen Weiher bildet, längs desselben führt die Straße, die Ufer sind beschmutzt, 2 öffentliche Aborte stehen daran. Diesen örtlichen Verhältnissen entsprechen die Bakterienzahlen: Nach Passierung der Ortschaften steigen dieselben, namentlich unterhalb Nankou, bis Shaho-tshöng sinken sie wieder. Der Bach bei Niën-tu-tsun kann vom Orte aus kaum verunreinigt werden, daher wenig Bakterien, eine desto höhere Keimzahl ist bei Shatun. Wassertierchen waren in den Quellen überhaupt nicht und traten in größerer Zahl nur im Bache bei Shatun auf. Coli-Kolonieen wurden oberhalb Nankou 3, unterhalb des Ortes 14 gefunden, sehr zahlreich wieder bei Shatun, sonst kamen sie nicht vor. Kommakolonieen wurden in diesen Gewässern gänzlich vermißt.

Im Flußgebiete des Hunho enthalten die Felsenquellen vou Ba-da-tshou und Tung-shan, oberhalb derer keine Ansiedelung ist, steil der kurz bewachsene Fels sich erhebt, nur eine geringe Zahl von Saprophyten, chemisch sind sie einwandslos, das Wasser sehr hart. Im Bi-yün-sce läuft der Quellbach durch die unteren Höfe derartig, daß ihm Stall und Abort nahe liegen, wir sehen die Bakterien stark gesteigert, reichlich Coli und Komma; chemisch äußert sich die Verunreinigung durch Steigerung von organischer Substanz und Trockenrückstand; ähnlich ergeht es dem Quellbach beim Lung-an-sce; oberhalb der Entnahmestelle liegen einige Häuser, deren Insassen ihre verschiedenen Abfälle längs der Ufer häufen; wieder hohe Keimzahl, viele Coli darunter, jedoch keine Komma; chemisch erweist sich die Zufuhr alter und frischer Zersetzungsmassen, daher einerseits hohe Härte und Salpetersäure, andererseits Erscheinen von salpetriger Säure, Steigerung der organischen Substanzen; der extrem hohe Chlorgehalt zeigt die Zufuhr von Fäkalien am besten. In den anderen Quellen trat Chlor überhaupt nicht auf. — Der Hunho hat auch zur trockenen Jahreszeit viel Wasser, es ist durch Lößbeimengungen gelb; bei Tshün-Tshwang

verläßt er eine lange, gering besiedelte Felsenenge. Hier fand sich eine für einen Fluß sehr geringe Keimmenge, das Wasser ist chemisch einwandslos, die Steigerung von Härte und Chlor rührt von den Lößteilchen. Bis Lu-ku-kiau sind die Ufer gering bewohnt, großenteils durch Felder eingenommen, trotz der heißen Jahreszeit war die Keimzahl hier ebenfalls nicht hoch; Coli- und Kommakolonieen fehlten bei Lu-ku-kiau, bei Tshün-tshwang kamen 3 Coli zur Beobachtung.

Beide Flußgebiete sind an Stellen untersucht, die bei geringer oder fehlender Ansiedelung eine erhebliche Verunreinigung nicht vermuten ließen. Gleichwohl sind einige der Gebirgsbäche gründlich verseucht durch eine nur kleine Zahl chinesischer Anwohner (s. folg. Tab.)

Wesentlich anders lagen die Verhältnisse auf dem Yang-tse-kiang. Hier lassen große volkreiche Städte den gesamten Unrat in den Strom. Zwischen diesen Zentren ist reich bebautes Kulturland, dicht besetzt mit Ortschaften, durchschnitten von Kanälen, die mit dem Strom zusammenhängen. Letzterer ist auch im Winter so wasserreich, daß Seedampfer ihn 1000 km landeinwärts befahren können. Zur Zeit meiner Untersuchungen herrschten bei Temperaturmaximis von 35—40° C unaufhörliche Regen, die eine Ueberschwemmung der ganzen Flußebene bewirkt hatten. Durch die atmosphärischen und von den Flüssen herbeigeführten Wassermassen wurde eine Selbstreinigung des Landes bewirkt, die allerorts aufgestapelten Schmutzmassen weggewaschen, die Unrat-überladene, stagnierende Flüssigkeit in den Kanälen von Stadt und Land verdrängt, durch oxydationskräftiges Wasser ersetzt. Dem entsprechen die Resultate: Bei der hohen Temperatur, der fortwährenden Neuzufuhr von suspendierten und Sinkstoffen, der verminderten Einwirkung des Lichtes durch fehlenden oder kurzen Sonnenschein, der durch die gelbe Trübung schwereren Permeabilität des Wassers für Lichtstrahlen ist die Gesamtzahl der Bakterien gegenüber der gewöhnlich in Deutschland gefundenen erheblich gesteigert. Wir können aber keinen Unterschied finden zwischen unterhalb der großen Städte entnommenen Wasserproben und denen oberhalb derselben oder an Flußerweiterungen zwischen wenig besiedelten Ufern. Nur der wasserärmere Han hat dicht am Ufer von Hankow höhere Bakterienzahl. Besonders ist hervorzuheben, daß Komma und Coli absolut nicht nachzuweisen waren. Chemisch findet sich eine auffallend geringe Verunreinigung, Anzeichen frischer Zersetzung oder Fäulnis fehlen, die zugeführten Substanzen erfahren hochgradige Verdünnung, rasche Oxydierung, die hohe Temperatur begünstigt letztere. Sedimentierung kann bei der bis 18 km in der Stunde betragenden Strömung nicht bedeutend sein. Der Han enthielt Ammoniak, auch sonst chemische Steigerung, hier dicht am Ufer waren die Umsetzungen noch nicht so kräftig erfolgt.

Der Whang-poo lieferte wiederum ein verschiedenes Bild. Shanghai mit seiner Bevölkerung von 500000 Seelen liegt am linken Ufer, der Fluß empfängt aus der unglaublich schmutzigen Chinesenstadt 4 kleinere Kanäle, die eine breite Schlammbank abgesetzt haben, über der außerdem die Dschunken und Hausboote ankern. Aus der fremden Niederlassung münden 4 große Schiffahrtskanäle, von denen speziell die 3 oberen Schlammbänke bilden. Auch von den fremden Haushaltungen wird der gesamte animalische und sonstige Abfall dem Flusse und den Kanälen übergeben, dazu kommen noch die im Flusse ankernden Schiffe. Die Kanäle haben bei Ebbe wenig Wasser, enthalten eine konzentrierte Jauche, bei Flut erhöht sich der Wasserstand nahe dem Flusse um 1,5 m,

| Entnahmestelle | Datum | Gesamt-keimzahl | Wasser-tierchen | Colikolonieen | Komma-kolonieen | Gesamthärte | Ammoniak | Salpetrige Säure | Salpetersäure | Chlor | Kaliumper-manganat-verbrauch | Trocken-rückstand | Temperatur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Flußgebiet des Shaho in Tshili** | | | | | | | | | | | | | |
| Quelle des Pei-shaho bei Pa-ta-ling | 25. April 1901 | 35 | 0 | 0 | 0 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Felsenquelle bei Dshü-Yunk-guan | 25. „ 1901 | 21 | 0 | 0 | 0 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pei-sha-ho oberhalb Veste Dshü-yung-guan | 25. „ 1901 | 818 | 2 | 0 | 0 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pei-sha-ho oberhalb Nankou | 25. „ 1901 | 907 | 4 | 3 | 0 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pei-sha-ho unterhalb Nankou | 25. „ 1901 | 1 915 | 3 | 14 | 0 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Bach bei Nien-tou-tsun | 26. „ 1901 | 357 | 15 | 0 | 0 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Bach bei Sha-tun | 26. „ 1901 | 7 890 | 35 | 251 | 0 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Pei-sha-ho oberhalb Sha-ho-tshöng | 26. „ 1901 | 1 100 | 18 | 0 | 0 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| **Flußgebiet des Hunho in Tshili** | | | | | | | | | | | | | |
| Felsenquelle bei Ba-da-tshou | 5. März 1901 | 61 | 2 | 0 | 0 | 36,96 | 0 | 0 | Spur | 0 | 0,4 | 12,0 | — |
| Quellbach im Tempel Bi-yün-see | 5. „ 1901 | 6 660 | 23 | 264 | 178 | 44,8 | 0 | 0 | „ | 0 | 0,94 | 123,0 | — |
| „ „ „ „ | 1. Mai 1901 | 3 210 | 9 | 138 | 102 | — | 0 | 0 | „ | 0 | 1,43 | — | — |
| Felsenquelle oberhalb Tunk-shan | 6. März 1901 | 72 | 3 | 0 | 0 | 37,0 | 0 | 0 | sehr wenig | 0 | 0,28 | 99,0 | — |
| Quellbach beim Tempelgrab Lung-an-see | 6. „ 1901 | 1 892 | 7 | 35 | 0 | 85,12 | 0 | zu viel | zu viel | 56,0 | 0,94 | 161,0 | — |
| Hunho-Oberlauf b. Tshün-Tshwang | 8. „ 1901 | 648 | 14 | 3 | 0 | 44,8 | 0 | 0 | Spur | 2,8 | 0,062 | 87,0 | — |
| Hunho-Mittellauf bei Lu-ku-kiau | 8. Mai 1901 | 4 600 | 17 | 0 | 0 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| **Yang-tse-kiang** | | | | | | | | | | | | | |
| Yangtse unterhalb Tai-chiang | Durchschnitts- | 97 000 | — | 0 | 0 | 11,0 | 0 | 0 | 0,6 | 0,8 | 0,774 | — | 30° C |
| „ oberhalb Chin-kiang | zahlen aus Roll- | 83 300 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0,6 | 0,76 | 0,666 | — | 29° „ |
| „ unterhalb Nan-king | röhrchen, angef. | 71 000 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0,6 | 0,8 | 0,640 | — | 28° „ |
| „ Erweiterung bei Ho-chow | bei Berg- u. Tal- | 92 000 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0,57 | 0,8 | 0,803 | — | 28° „ |
| „ unterhalb Ngan-king | fahrt Anf. Juli | 102 000 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0,6 | 0,78 | 0,690 | — | 27° „ |
| „ Erweiterung bei Tung-liu | bezw. Aug. 1901 | 79 300 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0,6 | 0,7 | 0,735 | — | 27° „ |

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Yangtse unterhalb Kiu-kiang | Durchschnittszahlen aus Rollröhrchen, angef. bei Berg- u. Talfahrt Anf. Juli bezw. Aug. 1901 | 87 000 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0,6 | 0,7 | 0,859 | — | 27° C |
| „ Stromenge bei Huang-shih-chiang | | 100 600 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0,53 | 0,69 | 0,935 | — | 27° „ |
| „ unterhalb Hankow | | 90 000 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0,56 | 0,8 | 0,916 | — | 28° „ |
| „ oberhalb Han-Yang | | 107 000 | — | 0 | 0 | — | 0 | 0 | 0,53 | 0,79 | 0,819 | — | 27° „ |
| Han bei Hankow | | 141 000 | — | 0 | 0 | — | Spur | 0 | 0,69 | 0,91 | 0,943 | — | 27½° „ |
| Whangpoo bei Shanghai | | | | | | | | | | | | | |
| unterhalb der Yamenkanal-Mündung bei Ebbe | 19. Dez. 1901 | 600 000 | — | 38 000 | 21 000 | 9,68 | 1,135 | wenig | 1,45 | 4,5 | 2,233 | 79,98 | 12° C |
| unterhalb der Yamenkanal-Mündung bei Flut | 19. „ 1901 | 330 000 | — | 18 000 | 9 000 | — | 0,9862 | viel | 1,7 | 3,2 | 1,621 | 67,1 | 11° „ |
| bei der Mündung des Yang-king-pang Creek bei Ebbe | 17. „ 1901 | 300 000 | — | — | — | — | viel | „ | viel | viel | — | — | 9½° „ |
| bei der Mündung des Yang-king-pang Creek bei Flut | 17. „ 1901 | 250 000 | — | — | — | — | viel | „ | „ | „ | — | — | 9° „ |
| bei der Mündung des Soochow-Creek bei Flut | 17. „ 1901 | 341 000 | — | — | — | — | 0,0033 | „ | 1,0 | 3,4 | 3,231 | 58,1 | 9° „ |
| bei der Mündung des Soochow-Creek bei Ebbe | 20. „ 1901 | 510 000 | — | — | — | — | 0,02 | „ | 1,9 | 4,2 | 4,179 | 64,2 | 9½° „ |
| bei der Pumpstelle der englischen Wasserwerke bei Flut | 17. „ 1901 | 217 000 | — | — | — | — | 0,0009 | wenig | 1,89 | 2,21 | 2,318 | 57,7 | 9° „ |
| bei der Pumpstelle der englischen Wasserwerke bei Ebbe | 19. „ 1901 | 290 000 | — | — | — | — | 0,0151 | viel | 1,6 | 2,7 | 2,633 | 59,98 | 9½° „ |
| beim Point-Hotel bei Flut | 19. „ 1901 | 100 000 | — | 2 000 | 400 | — | 0,0002 | 0 | 1,91 | 2,3 | 1,864 | 58,1 | 9° „ |
| „ „ „ Ebbe | 19. „ 1901 | 130 000 | — | 5 000 | 950 | — | 0,0007 | viel | 1,73 | 2,45 | 2,864 | 59,2 | 9° „ |
| Creeks bei Shanghai (Kanäle) | | | | | | | | | | | | | |
| Creek beim Lager Bubbling Well Road bei Flut | 18. Nov. 1901 | 700 000 | — | — | — | — | viel | viel | viel | viel | — | — | 10½°C |
| Creek beim Lager Bubbling Well Road bei Ebbe | 18. „ 1901 | 800 000 | — | — | — | — | viel | „ | „ | „ | — | — | 12° „ |
| Creek beim Lager Sinza Road bei Ebbe | 17. Dez. 1901 | 761 000 | — | — | — | — | 2,96 | 0 | 1,6 | 8,6 | 15,599 | 89,9 | 13° „ |
| Creek beim Lager Sinza Road bei Flut | 20. „ 1901 | 460 000 | — | 20 000 | 8 700 | — | 1,6 | viel | 1,5 | 5,6 | 16,836 | 71,0 | 11° „ |
| Creek beim Kloster Siccawei bei Ebbe | 20. „ 1901 | 490 000 | — | 20 000 | 7 200 | — | 1,72 | „ | 1,5 | 5,9 | 11,340 | 80,1 | 11° „ |

daher erhebliche Verdünnung und mit ablaufender Flut Auswaschung der Kanäle. Der Whangpoo selbst ist wasserreich, hat 10 m tiefe Fahrrinne, $^1/_2$ km Breite, bei Ebbe langsames Gefälle, bei Flut 1,5 m Spiegelsteigung. Die starke bakterielle und chemische Verunreinigung zeigt, welche gewaltige Unratmassen diesem Strome bei seinem Laufe an Shanghai vorbei übergeben werden müssen. Die größte Schmutzmasse kommt aus dem Yamenkanal der Chinesenstadt, einige Hundert Meter weiter beim Yang-king-pang ist sie nur halb so groß, am Soochow-Creek, dem Hauptabwasserkanal der fremden Niederlassung, erscheint neue, mächtige Steigerung, 2 km abwärts bei den englischen Wasserwerken findet sich Abnahme, die sich weitere 4 km abwärts beim Pointhotel fortsetzt. Die beim Yamenkanal gefundene Bakterienmenge sank bei Ebbe in der rund 4 km langen Strecke bis zu den Wasserwerken auf die Hälfte, in der gleich langen zum Pointhotel auf $^1/_6$. Im Gegensatze zum Yangtse konnte eine große Menge von Coli und Komma konstatiert werden, beide erfuhren bis zum Pointhotel eine starke Abnahme im Verhältnis zur Gesamtkeimzahl, speziell die Komma. Die Wirkung der Flut äußert sich deutlich beim Yamenkanal, die Bakterienzahl ist fast auf die Hälfte verringert, an den übrigen Punkten tritt sie nur beim Soochow-Creek schärfer hervor. Die chemische Untersuchung beweist ebenfalls die hochgradige Verschmutzung, zugleich aber, daß eine chemische Selbstreinigung, eine Oxydierung der zugeführten Stoffe innerhalb der untersuchten Strecke nur in beschränkter Weise stattfindet. Ammoniak geht zwar zurück, erscheint aber auch bei Flut noch beim Pointhotel, salpetrige Säure wurde nur bei Flut nicht gefunden. Salpetersäure erfährt geringe Steigerung, organische Substanzen bei Flut Verdünnung, weniger erhöhte Verarbeitung. Das Wasser stellt auf der ganzen Strecke einen guten Nährboden auch für anspruchsvollere Bakterien dar, die Keimabnahme erfolgt nicht durch Abtötung, sondern bei Ebbe durch Sedimentierung, bei Flut durch Verdünnung.

Die Inlandcreeks, von der Flut noch um $^1/_2$—$^3/_4$ m in der Spiegelschwankung beeinflußt, erhalten den gesamten Unrat der Anwohner und der Schiffe. In weiterer Entfernung vom Flusse erfolgt bei der Wasserarmut zur Ebbezeit durch die mit Schmutz beladen heraufkommende Flutwelle nur Flottieren des Unrates und der Sinkstoffe, zumal an jeder Krümmung eine Schlammbarre liegt; in denen näher am Flusse werden die Faulmassen allmählich mit der Ebbe herabgespült und bleiben als breite Schmutzbänke an der Mündung liegen. Diesen Zuständen entspricht die gesteigerte Menge der Bakterien, die ausgezeichnet ist durch eine außerordentlich große Zahl von Komma- und Coli-Kolonieen. Die übergroße Masse von organischen Substanzen, Ammoniak und salpetriger Säure, im Verhältnisse zu den kleinen Werten Salpetersäure beweisen den Mangel an Oxydationsfähigkeit des Wassers. Nur die Fäulnisbakterien finden hier gutes Fortkommen, wie namentlich durch die überaus reiche Zahl von Proteus-Kolonieen gerade in diesen Creekflüssigkeiten sich kundgab. Nicht unerwähnt bleibe das konstante Mißverhältnis der Komma und Coli; letztere erscheinen mehrmals, wenn Komma nicht gefunden wurden. Die Menge der Coli ist stets bedeutend höher gewesen; wenn eine Abnahme erfolgte, gingen die Komma stärker zurück. Beide erschienen in größeren Mengen in Wässern, die frische Fäkalienzufuhr erhielten; in reinen Quellbächen wurden sie niemals getroffen.

Der vom See Kung-ming-hu des Sommerpalastes an Peking hergeleitete Kanal ist die einzige Wasserader der Stadt. Der See wird gespeist durch die Quellen des Hügels Yü-tsüan-shan. Der durch Schleusen gestaute Abflußkanal läuft durch flaches, gering besiedelte Ackerland, an dem größeren Orte Hai-Tiën vorbei. Kurz vor dem Eintritte in den Stadtgraben geht er durch eine Herbergenvorstadt mit zahlreichen Karawanenhalteplätzen, läuft durch Gärten bis zu einem, von der Brücke Kao-leang überschrittenen Stausee, von welchem ein Kanal durch die Stadtmauer zum Lotossee geht, das Ueberfallwasser in den Stadtgraben läuft. Im Stauteiche werden Kleider und Gemüse gewaschen, an seinem Ufer sind Kameelhalteplatz und Abort, belagert von Hunden und Schweinen. Der 1. Stauteich innerhalb der Mauer ist sumpfig, die Umgegend nicht übermäßig dicht bevölkert. Der Verbindungskanal zum 3. Stauteich läuft durch ein dicht bewohntes, unsauberes Viertel, teilweise unter der Straße, die Ufer mit Unrathaufen bedeckt, die braungelbe Flüssigkeit im Winter nur $^3/_4$ m tief. Der 3. Stauteich liegt ebenfalls in einem volkreichen Stadtteile, von ihm geht der Zuflußkanal zum Lotossee unter einer verkehrsreichen Straße ab, an der Stelle befinden sich Kameelhalteplätze, Aborte, Einmündungen alter Straßenkanäle. Das Wasser ist mit bräunlichem, großblasigem Schaum bedeckt, schwärzlich. Der Lotossee hat 300 m von der Kanalmündung gelbgrünliche, durchsichtige Farbe, erhielt zur Occupationszeit keinen Unrat vom Ufer. Der Abflußkanal geht durch ein extrem schmutziges Viertel, teils durch die Haushöfe, teils unter der Straße, seine Flüssigkeit ist $^1/_2$ m tief. Dies Abwasser läuft durch die Gräben der Kaiserstadt auf deren östliche Seite, von hier südlich durch das Gesandtschaftsviertel, auf seinem Wege reichlich Unrat aufnehmend, und mündet in den Tatarengraben, der den Schmutz des nördlichsten Teiles der Chinesenstadt außerdem erhält. Die erwähnten Ueberfallwasser an der Brücke Kao-léang laufen um die Tatarenstadt in den als große Abfallgrube dienenden Stadtgraben, aus diesem geht der Da-tung-ho-Kanal hervor, längs dessen Ufern bis Hwang-kiau nur kleine Oertchen und Einzelgehöfte liegen, der Schiffverkehr war damals nicht groß. — Den örtlichen Bedingungen entspricht das Untersuchungsergebnis. Doch sind die Bakterienzahlen nicht so hoch, wie man zunächst erwarten möchte. Die in einem Bassin aufgenommene Quelle von Yü-tsüan-shan enthielt eine mäßige Zahl Wasserbakterien, chemisch war sie einwandslos. Der Kanal hat auf seinem Wege zur Stadt eine für einen offenen Flußlauf nicht hohe Keimzahl. Nach Passierung der Vorstadt schnellt die Keimmenge auf zufällig das Zehnfache hinauf, steigt langsam, aber nicht erheblich weiter, um im Verbindungskanal der Stauteiche eine gewaltige Erhöhung zu erfahren, diese geht durch die Sedimentierung und Verdünnung im 3. Stauweiher zurück; im Zuflußkanale zum Lotossee erscheint erneute hohe Keimsteigerung, die im Lotossee ca. 500 m von der Einflußstelle auf $^1/_3$ sinkt. Sie erfährt eine weitere geringere Abnahme in den südlicheren Seeteilen. Im Abflußkanale erfolgt in einer Entfernung von 200 m vom Abgange Verfünffachung der Bakterienmenge. Die meisten Keime waren im Tatarengraben, der wasserarmen Abfallgrube. Relativ die meisten Bakterien waren im Da-tung-ho beim Verlassen des Stadtgrabens, zumal hier die Wassermenge sehr groß ist und derselben auf fast 2 km Länge nur noch einige Hütten Unrat zuführen. Bis Hwang-kiau auf 8 km Entfernung findet erheblicher Rückgang der Bakterienzahl statt, doch ist derselbe nicht so hoch wie auf der 2,5 km langen Strecke im Lotossee (s. folgende Tabelle).

Der Kanal vom Kung-ming-hu auf seinem Laufe durch Peking.

| Entnahmestelle | Datum | Gesamt-keimzahl | Komma-kolonieen | Coli-kolonieen | Schwefel-wasserstoff | Phosphor-säure | Leim-substanzen | Ammoniak | salpetrige Säure | Salpetersäure | Kochsalz | Organische Substanz | Trocken-rückstand |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tempelquelle des Yü-tsüan-than | 30. April 1901 | 198 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Spur | 1,0 | 0,86 | 0,912 |
| Kung-ming-hu-Kanal beim Tempel Wan-shou-see | 28. „ 1901 | 2 890 | 0 | 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | viel | Spur | 2,11 | 1,3 |
| Stadtgraben an der Nordwestecke der Tatarenstadt | 5. Mai 1901 | 28 900 | 580 | 2 300 | 0 | 0 | 0 | deutl. | deutl. | „ | deutl. | 5,81 | 3,79 |
| Kanal zum Lotossee unter der Brücke Kao-léang | 5. „ 1901 | 32 500 | 840 | 4 300 | 0 | 0 | 0 | 0 | „ | s. viel | „ | 9,74 | 7,4 |
| 1. Stauweiher innerhalb der Tatarenstadt | 9. „ 1901 | 37 500 | 600 | 3 800 | 0 | 0 | 0 | deutl. | „ | „ „ | „ | 4,93 | 2,81 |
| | 11. „ 1901 | 42 300 | 800 | 2 400 | | | | | | | | | |
| Verbindungskanal des 1. u. 3. Stauteiches | 9. „ 1901 | 295 600 | 9 900 | 26 900 | viel | viel | s. viel | s. viel | wenig | „ „ | viel | 16,71 | 8,10 |
| | 11. „ 1901 | 235 500 | 11 000 | 23 800 | | | | | | | | | |
| 3. Stauteich beim Glockenturm | 9. „ 1901 | 107 800 | 8 200 | 22 100 | Spur | Spur | wenig | Spur | viel | „ „ | „ | 7,08 | 4,92 |
| | 11. „ 1901 | 169 200 | 7 800 | 18 900 | | | | | | | | | |
| Kanal zum Lotossee unter der Brücke an der Kaiserstadt | 9. „ 1901 | 248 900 | 11 100 | 40 400 | „ | „ | viel | s. viel | „ | „ „ | „ | 9,43 | 7,71 |
| | 11. „ 1901 | 206 100 | 17 300 | 20 700 | | | | | | | | | |
| Lotossee beim Drachentempel | 9. „ 1901 | 83 500 | 2 900 | 4 200 | 0 | 0 | 0 | Spur | 0 | „ „ | wenig | 6,19 | 4,03 |
| | 11. „ 1901 | 72 300 | 2 700 | 3 500 | | | | | | | | | |
| „ bei der Mingpagode | 9. „ 1901 | 56 100 | 1 800 | 2 100 | — | — | — | — | — | „ „ | — | — | — |
| | 11. „ 1901 | 63 400 | 1 600 | 1 900 | | | | | | | | | |
| „ beim Winterpalast | 9. „ 1901 | 47 300 | 1 500 | 2 700 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | „ „ | wenig | 5,76 | 3,97 |
| | 11. „ 1901 | 41 900 | 1 700 | 3 100 | | | | | | | | | |
| „ „ Dschunkenhaus | 2. Jan. 1901 | 77 520 | 35 | 187 | — | — | — | — | — | „ „ | — | — | — |
| | 9. Mai 1901 | 42 900 | 1 400 | 2 200 | | | | | | | | | |
| | 11. „ 1901 | 54 200 | 1 500 | 1 900 | | | | | | | | | |
| „ „ Inselpalast | 2. Jan. 1901 | 62 300 | 21 | 98 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | viel | wenig | 4,27 | 4,15 |
| | 9. Mai 1901 | 33 200 | 1 500 | 1 700 | | | | | | | | | |
| | 11. „ 1901 | 44 800 | 1 600 | 1 400 | | | | | | | | | |
| Abflußkanal des Lotossees im Stadtviertel vor dem Winterpalast | 9. „ 1901 | 174 200 | 7 800 | 29 500 | viel | s. viel | s. viel | s. viel | 0 | s. viel | viel | 13,83 | 9,52 |
| | 11. „ 1901 | 213 700 | 15 400 | 27 100 | | | | | | | | | |
| Abflußkanal des Lotossees an der Mündung in den Tatarengraben | 5. „ 1901 | 482 000 | 28 000 | 69 000 | s. viel | „ „ | „ „ | „ „ | s. viel | „ „ | s. viel | 21,60 | 15,93 |
| Da-tung-ho an seinem Abgang von Peking | 6. „ 1901 | 378 000 | 6 400 | 45 000 | „ „ | „ „ | „ „ | „ „ | „ „ | „ „ | „ „ | 18,31 | 14,2 |
| Da-tung-ho bei Hwang-kiau | 14. „ 1901 | 92 500 | 340 | 770 | 0 | 0 | 0 | deutl. | 0 | „ „ | „ „ | 6,65 | 5,13 |

Komma waren im Kanal außerhalb der Stadt überhaupt nicht, Coli in mäßiger Zahl; letztere vermehrten sich nach Passierung der Vorstadt 10mal stärker wie die Gesamtkeimzahl, zugleich erscheint eine reichliche Menge Komma. Bis zum Verbindungskanal der Stauteiche blieben die Zahlen sowie das Verhältnis beider Arten annähernd gleich, hier stieg die Menge beider Arten stärker als die Gesamtzahl, die Komma mehr als die Coli. Im Stauteich gingen sie im Verhältnis zur Gesamtzahl nur wenig zurück, erfuhren eine besonders hohe Zunahme speziell prozentuell zur Gesamtkeimmenge im Zuflußkanal des Lotossees. Im See erfolgt rascher Abfall, bemerkenswerterweise kam hier die Zahl der Komma jener der Coli fast gleich, übertraf sie sogar einmal. Auffällig ist das große Mißverhältnis zwischen den Resultaten im Winter und Sommer. Im Winter erhielt wegen Absperrung des Zuflusses der See kein verschmutztes Wasser zugeführt. Es finden sich sehr wenige Kolonieen beider Arten. Im Gegensatz dazu ist die Gesamtkeimmenge trotz dicker Eisbildung fast doppelt so hoch wie im Sommer. — Im Abflußkanal erfolgt wieder mächtige Erhöhung, ebenfalls in Prozenten stärker als die Gesamtzahl. Im Tatarengraben bleibt die Zahl beider Arten hoch, im Da-tung-ho nur die der Coli im Verhältnis zur Gesamtmenge gleich hoch, die Vibrionen haben bedeutend abgenommen. Bis Hwang-kiau sind beide rapid auf kleine Werte abgefallen.

Von chemischen Reaktionen erscheinen die auf Schwefelwasserstoff, Phosphorsäure, Leimsubstanzen erst im Verbindungskanal der Stauteiche, hier aber sehr kräftig, gehen im 3. Stauteich zurück, im Lotosseekanal ist Leimsubstanz sehr reichlich. Alle drei verschwinden im Lotossee, um sofort wieder in seinem Abflußkanal zu erscheinen, ebenso im Tatarengraben und Da-tung-ho. Ammoniak erscheint nach Passierung der Vorstadt in größeren oder kleineren Mengen bis zum Lotossee, hier noch an der ersten Untersuchungsstelle, dann erst wieder in den drei großen Schmutzwässern und auch bei Hwang-kiau. Salpetrige Säure verschwindet im Lotossee schon beim Drachentempel, erscheint bezeichnenderweise nicht im Abflußkanal, in großen Mengen im Tatarengraben und Da-tung-ho-Beginn. Chlor und Salpetersäure nehmen allmählich zu, sind im Lotossee gering, von da ab sehr reichlich. Organische Substanz und Trockenrückstand waren in teilweise extremen Mengen vorhanden, sie schwanken in geradezu typischer Weise hin und her mit der Wassermenge, deren Verunreinigungsmöglichkeit, den bakteriellen und sonstigen chemischen Befunden, speziell bestand ein förmlicher Parallelismus zur Zahl der Komma und Coli.

Im ersten Stauteich in der Tartarenstadt erfahren die zugeführten frischen Zersetzungsstoffe eine gewisse Verarbeitung, es äußert sich ammoniakalische Gärung, die Masse der organischen Stoffe nimmt ab. Im dritten Stauteich erfolgt wenig mehr wie Sedimentierung und Verdünnung. Beide Teiche können den zugeführten Unrat nicht verarbeiten, da sie gleichzeitig vom Ufer aus mit Schmutz beladen werden. Im Lotossee hingegen, der damals nur vom Zuflußkanal verschmutzt wurde, kommt es zu ausgeprägter Selbstreinigung, die durch verschiedene Umstände begünstigt wird: die überreichlich im Wasser enthaltenen Kalksalze geben ihre Kohlensäure ab, schlagen sich nieder, die Gesamtmasse der organischen Sinkstoffe fällt aus, die geringe zugeführte Wassermenge erfährt eine kräftige Verdünnung in dem weiten Becken, aber auch durch das nach Süden zu immer reinere Wasser eine erhebliche Oxydation. Beim Ausfallen der Kalksalze und Sinkstoffe werden mechanisch

Bakterien mitgerissen, auf die außerdem die Verdünnung schädigend wirkt, die besseren Nährmateriales bedürftigen kommen weniger fort, unter diesen sind augenscheinlich ihrer erheblichen Abnahme zufolge die Komma und Coli; es bleiben vornehmlich Wasserbakterien übrig. Da der Lotossee nirgends viel tiefer als 2 m ist, so kommt bei den chemischen Reinigungs- wie bakteriologischen Vernichtungsvorgängen die Wirkung des Lichtes in der gesamten Wasserschicht, die dadurch erfolgende Wasserstoffsuperoxydbildung zur Geltung. Diese ist bei dem dortigen Klima unvergleichbar mächtiger anzuschlagen wie etwa in Deutschland. Während der trockenen Jahreszeit scheint tagaus tagein die in dortiger Breite hochstehende Sonne, nur verhüllt durch einen gelegentlichen Staubsturm aus der Mongolei. Die Luft ist unter der Wirkung des anhaltenden, aus dem Kontinentinneren vom sibirischen Kältepol blasenden, daher sehr feuchtigkeitsarmen Nordwest-Monsuns außerordentlich trocken; so resultiert eine hohe Permeabilität für die Sonnenstrahlen, eine große Diathermanität der Atmosphäre. Es ist nicht so völlig von der Hand zu weisen, die auffallend niedrigen Bakterienmengen der offenen, auch stark verunreinigten Wässer mit der Intensität des Sonnenlichtes in Zusammenhang zu bringen; daß im Winter in dem durch eine dicke Eisdecke vor den Lichtstrahlen geschützten Wasser des Lotossees, der damals nicht durch den Zuflußkanal verschmutzt wurde, eine so viel höhere Wasserbakterienzahl sich fand wie im Sommer, scheint die Annahme zu stützen.

Der ausgeschleuderte Bodensatz der Wässer enthielt Quarz- und Kalkkrystalle, lehmige und tonige Körnchen. Im Stadtgraben Pekings, dem Verbindungskanal der Stauteiche, an deren Ufern, in den Kanälen der Chinesenstadt Shanghai, in dortigen Creeks fanden sich reichlich Pflanzenreste, Stärketrümmer, gelbe, glänzende Schollen ovaler Form, teilweise quergestreift, also Muskelfasern. Besonders hervorzuheben ist der wiederholte, einwandslose Nachweis der Eier des Spulwurmes, der *Taenia solium*, des *Distoma hepaticum*, des *Trichocephalus dispar*. Da gerade die Kanäle und Wasserläufe trotz ihres schmutzigen Wassers zum Waschen der Kleider, Gemüse und Kochgeschirre dienen, so erklären sich die außerordentlich häufigen Wurmkrankheiten bei Chinesen, wovon ich mich in Shanghai und Hankow wiederholt überzeugte. Niemals fand ich Echinokokkeneier, obwohl derselbe bei der großen Zahl von Hunden, der häufigen Erkrankung bei Schweinen sehr verbreitet sein muß.

Diatomeen und Algen waren in den Quellflüssen, im See des Sommerpalastes und im Lotossee, sonst fehlten sie in Peking wie Shanghai. Die Arten der Wassertierchen waren nicht überall dieselben. Rhizopoden und Infusorien waren in Quellflüssen selten oder nicht, dagegen in allen anderen, vornehmlich aber den stark verschmutzten Kanälen; Rotatorien und Vermes in größerer Zahl nur in den Lotosteichen, auch in den Stauteichen, im Whang-poo, in einigen Wässern der Provinz Tshili vereinzelt. Ebenso zeigten sich Arthropoden in letztgenannten Gewässern, dagegen nicht oder selten in Kanälen. Von Rhizopoden konnten nur Amöben gefunden werden. Von Infusorien waren Flagellaten durch Monadinen vertreten, von Ciliaten erschienen Holotrichen, von denen Colpidien, Cyclidien und Paramäcien sicher erwiesen wurden; von Hypotrichen *Euplotes Charon*; von Peritrichen einige Vorticellen; von Rotatorien *Rotifer vulgaris*; von den Vermes nur *Anguillula*. Die Arthropoden erschienen in Wassermilben, Daphnien, *Cyclops*-Arten, Gammariden. Als Darmbewohner figurieren darunter: Amöben, Monadinen, Para-

mäcien. Für die Lebensbedingungen der Wassertierchen ist interessant, daß die höheren ebenso wie Algen und Diatomeen in stark verschmutzten Wässern nicht oder vereinzelt auftraten.

Die meist beobachteten Bakterienkolonieen waren ziemlich zahlreiche einer Cladothrix, die als weißlicher, gefalteter, etwas zackiger Belag wuchs, weiße Schimmelpilze, sehr reichlich weiße und gelbe Hefen, seltener rote und orange. In großer Zahl kleine, wetzsteinförmige, nicht verflüssigende, gelbliche Kolonieen von Kurzstäbchen, in ziemlicher Menge weiße, runde, fahlgelbe und durchsichtig graue, an den Enden fein ausgezackte Kolonieen von großen, beweglichen, rasch verflüssigenden, rasch wachsenden Stäbchen, die alle reichlich Indol bildeten. Vereinzelt Fluorescens liquefaciens, Subtilis; endlich weiße, nicht verflüssigende, kleine Kokken. Proteus Hauser erschien in zahlreichen Exemplaren, speziell bei Beginn der wärmeren Jahreszeit. Von Anaëroben wuchsen weißliche, verflüssigende Kurzstäbchen mit keulenförmigen Sporen, grau-gelbliche, verflüssigende Langstäbchen mit mittelständigen Sporen, durchsichtig graue, langsam verflüssigende, von feinen Stäbchen mit endständigen Knöpfchensporen; alle nicht pathogen. In Platten, die einer Erhitzung von 65$^0$ ausgesetzt wurden, wuchsen so ziemlich die gleichen, ferner weiße und gelbe Kartoffelbacillen, Subtilis, Wurzelbacillen. Die anaëroben und hitzebeständigen Keime stiegen und sanken in ihrer Zahl, je nach der Höhe der groben Wasserverschmutzung.

Die Kommakolonieen waren auf Agar grau-weißlich, feinst ausgezackt an den Rändern, wuchsen im Strich als grau-weißlicher Belag, der nach 10—14 Tagen Krystalle enthielt; in Gelatine als ein oben ausgebauchter Trichter nach 24 Stunden in Stichkultur, als verschieden große Kugelsegmente mit ausgezackten Rändern auf der Platte, Bouillon wurde dick getrübt; es bildete sich etwas Indol, kein Cholerarot; in Traubenzuckerbouillon kein Gas. Die kleinen Vibrionen, leicht gebogen, bewegten sich lebhaft mit endständigen Geißeln.

Die Coli wuchsen auf Agar und besonders Gelatine als unregelmäßige, rundliche bis plump blattförmige, kleinere und größere, grauweißliche Kolonieen mit plumper, manchmal radiärer, dann auch maulbeerartiger Zeichnung, keine Verflüssigung; auf Kartoffeln weißlicher bis gelblicher bis bräunlicher Belag, in Traubenzuckerbouillon reichlich Gas, in aus kondensierter Milch dargestellter Lackmusmolke zwischen 7,3 und 10 Proz. Säure; auf 2-proz. neutraler Gelatine plumpe Sternformen mit kurzen Ausläufern; sie gaben erst in Verdünnung 1 : 5 bis 1 : 10 mit Blut von Typhuskranken die Grubersche Reaktion. Auf junge Hunde und Katzen übten 5 ccm Bouillonkultur in die Bauchhöhle keinen Einfluß aus. Die chinesischen braunen Hausmäuse, weiße Mäuse, Backenhörnchen (ein vorzügliches Versuchstier) wurden durch 1 Oese Agarkultur subkutan 2 Tage krank, 3 Oesen in die Bauchhöhle töteten durch Giftwirkung, im Blute keine Bakterien; das Blut agglutinierte in Verdünnung 1 : 40.

Bekanntlich sind beide Arten schon oft im Wasser gefunden worden. In Peking und Umgegend, in Shanghai, auf dem Yangtse bestehen aber doch merkwürdige Verschiedenheiten in ihrem Vorkommen. In reinem Wasser sind sie so gut wie ausschließlich niemals vorhanden; im Lotossee sind im Winter wenig, im Frühjahr nach Einleitung des Kanales sehr viele. Im Yangtse sind keine, im Whangpoo und den Creeks eine außerordentlich große Menge. Im Kanalsystem des Lotossees steigt und fällt ihre Menge völlig analog der Verseuchungsmöglichkeit- und

mächtigkeit durch animalische Abfälle, speziell menschliche Fäkalien; kurz, sie wurden dort getroffen, wo Fäkalien in größeren Mengen und ziemlich unvermittelterweise in das Wasser gelangten. Sie scheinen für längeren Aufenthalt in reinem Wasser nicht genügend Existenzbedingungen zu finden, da ihre Zahl sich im Lotossee bedeutend schneller vermindert als die Gesamtkeimzahl, sie im Yangtse überhaupt nicht zu finden waren, in den sie doch in großen Mengen gelangen mußten.

Hierzu muß noch einiges bemerkt werden: Die Truppen im Gebirge oder fern von den großen Städten, auch in dürftigsten Quartieren, ebenso die Chinesen auf dem Lande haben von Typhus, Ruhr, Darmkatarrhen, Brechdurchfall viel weniger zu leiden. Auf den Kriegs- und Handelsschiffen, die vor Shanghai liegen, kommen immer wieder kleine Epidemieen obiger Affektionen vor, während dieselben auf den Yangtsedampfern geradezu selten sind. Die Chinesenstadt Shanghais, deren Yamenkanal jene riesigen Mengen von Coli- und Kommabacillen mit sich führt, die weithin den Fluß verseuchen, hatte damals in heftigster Weise Ruhr und Darmkatarrhe. Coli- und Kommakolonieen zusammen erschienen in Schachtbrunnen Pekings besonders dort, wo Kanäle, Aborte, ältere und frischere Fäkalienanhäufungen den Brunnenschächten nahelagen.

Alle diese Anzeichen scheinen dafür zu sprechen, daß beide Kolonieenarten, speziell, wenn sie vereint in einem Wasser gefunden werden, auch in geringerer Zahl nicht ein so völlig indifferentes Vorkommnis seien, wie oft angenommen wird. Im Verein mit einer, wenn auch gering gesteigerten Gesamtbakterienzahl, sind sie ein sehr brauchbares Unterstützungsmittel bei Beantwortung der Frage, ob ein Wasser als „verdächtig“, genußunfähig zu bezeichnen ist.

---



# Bakteriologische Untersuchungen über das Kehricht der Kriegsschiffe.

[Aus dem Hygieneinstitute der kgl. Universität Padua, geleitet von Prof. A. Serafini.]

Von Dr. **C. M. Belli,** Arzt I. Kl. u. Honorarassistent d. Hygieneinstituts.

Die Gefahr, welche der Staub und das Kehricht auf den Schiffen herbeiführen kann, ist nahezu die gleiche, wie in den Behausungen auf dem Festlande; ja die Möglichkeit der Einführung von pathogenen Keimen in den Organismus mittels des Staubes ist auf den Schiffen sogar größer, da die Seeleute, von der rauhen Jahreszeit abgesehen, gewöhnlich barfüßig gehen und sehr häufig Hautverletzungen an den unteren Extremitäten haben.

Auf den Schiffen ist der Ursprung des Schmutzes im wesentlichen der gleiche, wie in den Wohnungen am Lande; immerhin bestehen hier einige Verschiedenheiten, auf die hinzuweisen angezeigt ist.

Die Schiffe können vom hygienischen Gesichtspunkte aus als Sammelwohnungen betrachtet werden, deren Stockwerke zu besonderen Zwecken bestimmt sind und durch die Art des Fußbodens, die Ventila-

tion, die Temperatur, die Hygrometrie und die Reinigungsart differieren, alles Dinge, welche auf die Bildung und Verbreitung des Staubes Einfluß haben. In diesen Wohnungen entspricht, in Beziehung zum Gebrauche der verschiedenen Räume, der Ursprung der Abfälle demjenigen, der sich in den analogen Wohnungen des Festlandes produziert; so ergibt er sich in dem Logis aus dem Staube, der von den Kleidern, Möbeln etc. fällt, in den Kesselräumen vom Abfall der Steinkohlen bei der Handhabung der Oefen und so fort. Aber die Wände aller Lokale (seien sie mit Holz bekleidet oder nicht) sind mit Emaillackierungen überdeckt, ausgenommen die Decken einiger Logis, die mit lackiertem Kork bedeckt sind; die Fußböden, ausgenommen das Deck, sind entweder unbedeckt (Arbeitslokale) oder gänzlich mit Linoleum bekleidet (Wohnräume); folglich hat, im Gegensatze zu den Wohnungen des Festlandes, auf diesem Wege keine Bildung von Schmutzmassen stattgefunden, ausgenommen in den obenerwähnten Fällen, d. h. in den Lokalen mit von lackiertem Kork bekleideter Decke, von welcher häufig Staub von Kalkkarbonat und Korkabfällen herabfällt, und auf den Decks, auf denen sich Holzsplitterchen und kleine Stückchen Schiffpech loslösen.

Hinsichtlich der Einführung von Staubmassen von außen sind die Verhältnisse verschieden, je nachdem es sich um verankerte oder auf der Fahrt befindliche Schiffe handelt.

Auf den in einer Werft verankerten und mittels Landungsstegen mit dem Ufer in Verbindung stehenden Schiffen erfolgt die Einfuhr des Staubes von den Promenaden am Ufer nahezu in gleicher Weise, wie dies bei den Wohnungen des Festlandes der Fall ist.

Auf die sonst verankerten Schiffe gelangt der Staub ebenfalls mittels der Luftströmungen und durch den Menschen- und Materialverkehr, aber bei der größeren Entfernung vom Festlande dürfte die Einführung weniger leicht sein.

Auf der Fahrt wird der Staub von den Winden an Bord getragen welche entsprechend den Quadranten und der Entfernung von den Küsten mehr oder weniger damit beladen sind; aber von außergewöhnlichen Verhältnissen abgesehen, wie diese z. B. der Scirocco an den Nordküsten Afrikas darbietet, ist die Menge des Staubes, der auf diese Weise in die Schiffe dringt, sehr gering und kann vom hygienischen Standpunkte aus unbeachtet bleiben.

Nachdem derart der Ursprung des Kehrichts auf den Schiffen bezeichnet worden ist, liegt es uns ob, die Mittel zu prüfen, die man zu seiner Entfernung anzuwenden pflegt. Diese sind verschieden in den verschiedenen Stockwerken, entsprechend der Art des Fußbodens; und die Häufigkeit der Reinigung variiert ebenfalls gemäß dem Verhältnisse, in dem sich das Schiff befindet (ob in Takellage oder in Disponibilität).

Das Deck ist mit bloßen Holzdielen gepflastert, deren Spalten mit Werg und Schiffsteer undurchlässig gemacht werden. Dieser Fußboden wird auf den in Betrieb und in Reserve stehenden Schiffen jeden Morgen, auf den in Disponibilität befindlichen alle 2 oder 3 Tage mit Besen gekehrt und dann reichlich mit Wasser gewaschen, mit Schrubbern oder Bürsten abgerieben und mittels Kautschukexsikkatoren getrocknet; mehrmals täglich wird er dann, je nach Bedürfnis, mit den gewöhnlichen Besen gekehrt. Die gleiche Reinigungsmethode befolgt man für die auf dem Oberdeck belegenen Lokale, die, wie die Küchen und Latrinen, mit Zementziegeln gepflastert sind.

Die Batterieen, die Korridore, die Sonderlogis, die Krankenräume

und die Kambüsen sind mit Linoleum gedielt und die Reinigung dieses Bodenbelags handhabt man täglich auf den in Betrieb und Reserve gestellten Schiffen und alle 2 oder 3 Tage auf denen in Disponibilität, indem man selbigen kehrt, mit feuchten Schrubbern abwäscht und mit trockenen Schrubbern auftrocknet, ihn außerdem mit gewöhnlichen Besen nach den Mahlzeiten der Mannschaft und jedesmal überhaupt, wenn es nötig ist, abkehrt.

In den Arbeitsräumen und in den Depots ist der Fußboden mit transportablen Dielen (beweglichen Eisen- oder Gußeisenplatten) belegt, die meist glatt, zumeist aber, und zumal in den Hauptmaschinenräumen, riefig sind, und dieser Fußboden wird allmorgendlich durch Kehren gereinigt. Außer dieser gewöhnlichen Reinigung jedoch kratzt man diese riefigen Fußböden von Zeit zu Zeit mit Metallbürsten ab und glättet sie mit Graphit[1]), eine Praxis, welche häufig auf den im Betriebe befindlichen Schiffen und nach Vollendung der Reparaturarbeiten auf den in Disponibilität befindlichen ausgeführt wird.

Das in den verschiedenen Stockwerken gesammelte Kehricht wird sofort fortgeschafft, indem man es direkt durch die Aschengänge ins Meer schüttet.

Man sieht also, daß zum Unterschiede von den Behausungen des Festlandes, die zumeist durchlässig sind und auch bei einer sorgsamen Reinigung Staub zurückhalten, die Fußböden auf den Schiffen, mit Ausnahme des Decks, undurchlässig sind, daher die Reinlichkeit auf denselben vollständiger und wirksamer ist.

Und auch auf Deck, auf dem sich in den vom Zersplittern des Holzes sich ergebenden Zwischenräumen Schmutz anzusammeln vermag, wird derselbe durch Reiben und ausgiebiges Waschen wahrscheinlich völlig entfernt.

Mit Uebergehen der zwei ersten, die für die Orientierungsexperimente dienten, wurden die Untersuchungen auf 10 Schiffen vorgenommen, bei deren Wahl ich die folgenden Kriterien befolgte: 1) Die Anhäufung, die sicherlich einen Einfluß auf die Menge und Art der Mikroorganismen, welche dem Staube anhaften, ausüben muß, weshalb ich die Untersuchungen auf Schiffen mit verschiedenem Anhäufungsgrade, d. h. in ihren Verhältnissen von Dienstbereitschaft, Reserve und Disponibilität vorgenommen habe. 2) Die Lokalität, in der sich das Schiff befindet, d. h. ob auf der Werft, im Hafen oder auf der Fahrt für die größere oder geringere Leichtigkeit der Einführung des Staubes von außen. Ich habe daher die Untersuchungen angestellt auf Schiffen, die im Arsenal zu Venedig verankert waren, und auf solchen, die im Becken v. S. Markus vor Anker lagen; es fehlte nur die Gelegenheit, sie auf Schiffen, die auf der Fahrt sind, zu wiederholen; aber nach dem, was wir über die Zusammensetzung der Seeluft wissen, ist die Annahme gestattet, daß sich der Staub der Schiffsräume durch dieses Mittel nicht mehr verunreinigen kann als auf den vor Anker liegenden Schiffen.

Von den 10 Schiffen waren 5 in Armierung und Reserve, eines fungierte als Kaserne der lokalen Verteidigung von Venedig und 4 waren in Disponibilität.

In Armierung und Reserve waren:

Calabra, Schlachtschiff 5. Klasse, neuester Armierung, das Gegenstand genauer Beobachtungen war, deren erste während seiner Anwesenheit im Arsenal, deren zweite während seiner Verankerung im Hafen angestellt wurde.

Garigliano, Hilfsschiff 4. Klasse, seit einem Monat in Venedig angekommen.

Archimede, „ 4. „ als Admiralsschiff funktionierend.

Torpedoboot No. 76, in Armierung seit verschiedenen Monaten.

In Disponibilität waren:

Bausan, Schlachtschiff 4. Klasse, vollständig restauriert und zur Armierung bereit.

Stromboli, Schlachtschiff 4. Klasse, seit kurzem aus dem äußersten Orient

1) Graphit, den man auch für die Bleistiftfabrikation gebraucht, darf als ein nicht schädlicher Staub angesehen werden.

zurückgekehrt. Die Beobachtung wurde während des Aufenthaltes im Werftbassin gemacht, wo das Schiff seit 10 Tagen Aufenthalt genommen hatte.

Etruria, Schlachtschiff 5. Klasse, seit langer Zeit in Disponibilität, um gründlicher Reparatur unterzogen zu werden.

Volturno, Hilfsschiff 3. Klasse, seit wenigen Tagen von einer Kampagne im Roten Meere zurückgekehrt.

Schließlich das aus den Listen gestrichene Schiff Esploratore, das als schwimmendes Kasernenschiff für die Lokalverteidigung von Venedig dient und seiner neuen Bestimmung durch die Entfernung aller Maschinerieen und durch die Umwandlung der derart freigewordenen Räume in ausgedehnte Mannschafts-Schlafsäle angepaßt wurde.

Die Beobachtungen wurden innerhalb des Arsenals von Venedig auf den folgenden Schiffen vorgenommen: Calabria (1. Beobachtung), Garigliano, Bausan, Stromboli, Etruria, Volturno; und im St. Markusbecken auf den nachfolgenden, die dort verankert lagen: Calabria (2. Beobachtung), Archimede, Torpedoboot No. 79, Difese Locale (Ex-Esploratore).

Auf den genannten Schiffen wurden 39 Staubproben aus dem Kehricht gesammelt, und zwar:

| | |
|---|---|
| 8 auf Deck | 4 in den Lokalen der Kessel |
| 10 in den Korridoren | 2 „ „ Kambüsen |
| 3 „ „ Offiziersräumen | 1 „ „ Küchen |
| 2 „ „ Unteroffiziersräumen | 1 „ „ Kieldepots |
| 2 „ „ Lazaretträumen | 1 „ „ Latrinen |
| 5 „ „ Maschinenlokalen | |

Zu den Korridoren rechne ich die Torpedokammer des Torpedobootes und die Schlafräume der „Difesa Locale“ (einer und der andere mit rotlackiertem Holz getäfelt), da sie dem gleichen Zwecke wie die Korridore dienen.

Auf den armierten und in Reserve befindlichen Schiffen habe ich den Staub zumeist um 6½ Uhr früh unmittelbar vor dem Beginn der Reinigung gesammelt; auf denjenigen in Disponibilität habe ich diese Arbeit zu anderen Stunden vorgenommen, aber nie früher als 24 Stunden und zuweilen selbst nach 2 oder 3 Tagen von der letzten Abwaschung an gerechnet.

Die höchst geringfügige Menge Staubes (wenige Gramm), die sich auf einer Oberfläche von 20 und mehr Quadratmeter sammeln ließ, hat mich verhindert, wie es meine Absicht war, die chemische Prüfung vorzunehmen; ich habe deshalb meine Aufgabe auf die bakteriologischen Untersuchungen beschränkt.

Mit diesen setzte ich mir zum Ziele: 1) die Menge der Keime in 1 ccm Schiffskehricht festzustellen und 2) nachzuforschen, ob sich in demselben pathogene Keime befänden.

Zur Aufsammlung des Staubes bediente ich mich für jedes Lokal eines besonderen Besens, der zuvor innerhalb einer Leinwand mit feuchter Wärme sterilisiert war.

Mit dem Besen wurde der für das Experiment ausgesuchte Fußboden gekehrt und der Schmutz auf einen Punkt zusammengehäuft, von wo er mittels eines Blattes sterilisierten Papieres in ein dunkles, mit trockener Wärme sterilisiertes Fläschen übergefüllt wurde.

Nach Aufsammlung des Staubes und dessen schneller Uebertragung ins Laboratorium wurde in erster Linie zur Zählung der Keime auf den flachen Kulturen geschritten.

Um die für solche Kulturen nötigen Verdünnungen festzustellen, habe ich zuvor auf den Schiffen Veniero und Stromboli zwei Orientierungsproben ausgeführt, durch die ich mir ein Kriterium bildete über die annähernde Menge der Keime im Schiffskehricht, über die Beziehungen zwischen den negativen Formen und ihrer Dauer und über das eventuelle Vorhandensein von pathogenen Keimen.

Der in den einzelnen Lokalen gesammelte Staub wurde mittels eines Siebes in eine sterilisierte Petrische Schachtel eingesiebt, wobei ich Sorge trug, daß während dieser Operation jede zufällige Verunreinigung verhütet wurde. Die Siebe, nach dem Modell derjenigen von Knopp, bestanden aus kleinen Schachteln von Zinkblech mit Deckeln aus gleichem Metall und Boden von Metallnetz mit Oeffnungen von ca. ½ mm Durchmesser, und wurden in Kochschen Schachteln trocken destilliert. Von derart durchgesiebtem Staube wurde ½ ccm entnommen, wobei als Maß das Fraenkelsche Löffelchen galt, das jedesmal an der Flamme sterilisiert wurde, und man mischte ihn mit 100 ccm destillierten und sterilisierten Wassers in ein Erlenmeyersches Fläschchen, eine erste Suspension zu 1 per 200 bildend. Diese Suspension wurde eine halbe Stunde lang gerührt und indem man 1 ccm in ein anderes Fläschchen mit 50 ccm destillierten und sterilisierten Wassers goß, bildete sich eine zweite Suspension. Mit 1 ccm, 0,5 und 0,2 dieser letzteren, d. h. mit Verdünnungen zu $^1/_{10000}$, $^1/_{20000}$ und $^1/_{50000}$,

wurden, resp. nach Kochscher Methode, drei Plattenkulturen in Agar und drei andere in Gelatine zur Zählung aller Mikroorganismen des Staubes unternommen.

Aber abgesehen von der Kenntnis der Gesamtzahl der Keime, schien es mir nützlich, nachzuforschen, ob dieselben ganz oder teilweise als Dauerformen vorhanden wären, da dieses Datum ein Kriterium zu liefern vermochte für die Widerstandsfähigkeit der dem Staube anhaftenden mikroorganischen Species gegenüber den natürlichen physischen und den Desinfektionsmitteln.

Zu diesem Behufe erhitzte ich im mit Thermoregulator versehenen Doppelbade die erste Suspension und nach erfolgter Abkühlung entnahm ich derselben 1 ccm; um eine dritte Suspension in einem Fläschchen mit 20 ccm destillierten und sterilisierten Wassers zu bilden, und mit 1 ccm, 0,5 und 0,2 dieser letzteren, d. h. mit Verdünnungen von $^1/_{4000}$, $^1/_{8000}$ und $^1/_{10000}$, machte ich gleichermaßen drei Plattenkulturen in Agar und drei in Gelatine.

Natürlich waren alle für diese Transporte zur Verwendung gelangenden graduierten Pipetten vorher sterilisiert worden.

Die Agarplatten waren in einem Thermostaten bei 37° gehalten worden, diejenigen der Gelatine in einem anderen bei 20° und die Zählung der Kolonieen wurde nach 48 Stunden bei den ersteren und nach 96 Stunden bei den anderen vorgenommen.

Außer der Gelatine habe ich für die Zählung der Keime auch Agar angewendet, um die Entwickelung jener Keime zu erlangen, welche sich bei der Temperatur von 20° nicht oder nur sehr schwer und nach langer Zeit vervielfältigen und unter denen gerade diejenigen sich befinden können, die mit pathogenen Eigenschaften ausgestattet sind, da es ja bekannt ist, daß für sie im allgemeinen die Temperatur von 37° besonders günstig ist.

Nach der Zählung der Kolonieen schritt ich zur Identifizierung derjenigen vor, die wegen ihrer Häufigkeit oder besonderer hervorspringender Merkmale mir des besonderen Studiums würdig erschienen.

Hatte ich die Vorbereitung der Plattenkulturen für die Zählung der Keime beendet, so unternahm ich sofort die Experimente für die Aufsuchung der pathogenen Bakterien.

Die im allgemeinen bei solchen Nachforschungen bevorzugte Methode ist diejenige der Einimpfung einer kleinen Menge Staubes in einem Täschchen unter die Haut des Versuchstieres; aber zufolge der Vorproben schien mir dieselbe nicht für den Schiffskehricht angezeigt, weswegen ich den Peritonealweg vorgezogen habe, der die eventuell darin befindlichen Infektionskeime in besserer und schnellerer Weise zur Evidenz bringen konnte.

Aber im Gegenteil zu dem, was sich bei der Zählung ergibt, für die die vorausgehende Durchsiebung des Staubes die Resultate nicht alteriert, hätte bei der Aufsuchung der pathogenen Bakterien die Einimpfung des durchgesiebten Staubes allein zu irrtümlichen Schlüssen führen können, weil, wenn die infizierenden Mikroorganismen durch Zufall nur am gröberen Teile des Staubes hängen blieben, der eben nicht durch das Sieb passiert ist, sie ihre Gegenwart nicht manifestiert hätten; und andererseits war es wegen der Existenz von Holzsplitterchen, Stroh- und Kohlenrestchen und anderen organischen Substanzen sowie unlöslichen Mineralien nicht ratsam, den Staub in Substanz ins Peritoneum einzuführen, weil die besagten Komponenten desselben, indem sie auf die Serosa eine mechanische Aktion ausübten, krankhafte Erscheinungen hätten hervorrufen können, die man irrtümlicherweise der Existenz von pathogenen Keimen im Staube zugeschrieben hätte. Deshalb habe ich vorgezogen, eine Suspension des Staubes in destilliertem und sterilisiertem Wasser in der Proportion von etwa 1 auf 50 vorzunehmen und nach verschiedentlicher Schüttelung während einer halben Stunde dieselbe mit einer Pipette durch eine kleine Oeffnung in 3—4 ccm ins Peritoneum eines Meerschweinchens einzuführen.

Um diese Untersuchung dann zu vervollständigen, habe ich es für opportun befunden, eine zweite Serie von Einimpfungen vorzunehmen unter Befolgung der Pasteurschen Methode für die Isolierung der septischen Vibrionen, des Tetanus- und des Milzbrandbacillus, d. h. indem ich die besagte Lösung per 5' im Doppelbade erwärmte und 3—4 ccm davon unter die Haut eines anderen Meerschweinchens injizierte.

Die inokulierten Tiere wurden über $2^1/_2$ Monate in Beobachtung gehalten und an den gestorbenen wurde die Sezierung vorgenommen und die Todesursache studiert gemäß der bakteriologischen Technik, unter Beobachtung der frischen und mit organischen und Gewebeflüssigkeiten gefärbten Präparate, unter Vorbereitung der aërobischen und anaërobischen Kulturen der gleichen Flüssigkeiten und schließlich, indem ich die pathogenen Eigenschaften der isolierten Keime identifizierte und studierte.

---

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind die folgenden:

1. Menge und Aussehen des Kehrichts.

Die Menge des gesammelten Staubes war auf den verschiedenen Schiffen und in den verschiedenen Stockwerken des gleichen Schiffes verschieden.

Auf den in Armierung und Reserve befindlichen Schiffen war es schwierig, auch nur eine kleine Menge davon zu sammeln; leichter war dies hingegegen auf denjenigen in Disponibilität, wo zufolge des geringen Personalbestandes die Reinigung relativ weniger häufig und gründlich ist.

Die größte Menge wurde immer in den Korridoren erzielt, weniger auf Deck und noch weniger in den übrigen Lokalen, ausgenommen in denjenigen der Kessel (Kohlenstaub).

Auf den im Arsenal verankerten Schiffen war die vom gleichen Flächenraume gesammelte Menge etwas größer als auf den im Hafen verankerten; aber in Wirklichkeit handelt es sich um Unterschiede von geringer Bedeutung, die wahrscheinlich von dem Faktum abhängen, daß die ersteren sich zum größeren Teile in Disponibilität befanden und also infolge dessen, wie schon gesagt ist, relativ weniger reinlich als die in Armierung befindlichen waren.

Das Aussehen des Staubes differierte für jedes Stockwerk und Lokal, entsprechend dem Gebrauche, dem diese dienen; hingegen war die gröbere Zusammensetzung des in analogen Lokalen verschiedener Schiffe gesammelten nahezu gleich, wie dies auch bei zwei aufeinanderfolgenden Beobachtungen auf dem gleichen Schiffe (Calabria) der Fall war. Deshalb beschränke ich mich, der Kürze halber, auf eine zusammengedrängte Beschreibung des Aussehens des Staubes gemäß den Lokalen der verschiedenen Schiffe.

Decks. Die Staubmassen der Decks waren an den Tagen schönen Wetters immer trocken, hingegen war an zwei Regentagen keine Spur davon vorhanden, so daß es mir nicht möglich war, die geringe, zu meinen Untersuchungen nötige Menge zu sammeln. Derselbe war aus einem feineren und gewöhnlich reichlichen Teil, der das Sieb passierte und aus winzigen Körnchen Schiffsteer und Sand bestand, und aus einem gröberen Teil zusammengesetzt, der von Holzsplittern, Tabaksblättern und Cigarettenpapier, Ueberresten von Stearinkerzen, Fäden von geteerten Stricken und Tauen, Papierstückchen, Sägespänen etc. gebildet war.

Korridore. In diesen Lokalen war das Aussehen des Staubes je nach der Art der Fußbodentäfelung derselben verschieden. Auf den mit Linoleum bedeckten Korridoren war er immer in trockenem Zustande und aus dem gleichen feineren Teile von Teer und Sand und einem Teile zusammengesetzt, der im Siebe blieb und nach den verschiedenen Tageszeiten variierte, da er nach den Mahlzeiten vorwiegend aus Speiseresten (Brot- und Käsekrümeln und Aehnlichem) und morgens aus Haaren und Fasern der Kleider und Decken, Cigarren- und Cigarettenresten, Stückchen von Stearinkerzen, Papier, Stoffen, Abfällen und Ueberresten jeder Art. Auf zwei aus dem Roten Meere zurückkehrenden Schiffen, Stromboli und Volturno, enthielt der unter den Kästen der Mannschaft gesammelte Staub viele Larven der gewöhnlichen Schiffsinsekten.

Auf dem Korridor des Volturno, gleich dem Deck in Holz ge-

Kgl. Schiff „Calabria“.

1. Beobachtung, innerhalb des Arsenals. 27. Januar 1902.

| Lokale | Nährboden | Zählungsmethode aller Keime oder der alleinigen Sporenformen | Durchschnittszahl der Keime pro ccm | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | totale | der verflüssigenden | der Hyphomyceten |
| Korridor | Agar | Gesamtzahl | 75 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 8 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 35 000 | — | 10 000 |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |
| Offiziersräume | Agar | Gesamtzahl | 10 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 9 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 280 000 | 125 000 | — |
| | | Sporenformen | 4 000 | 4 000 | — |
| Mannschaftsküche | Agar | Gesamtzahl | 15 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 45 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 20 000 | — | — |
| Kambüse | Agar | Gesamtzahl | 166 900 | — | — |
| | | Sporenformen | — | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 1 860 000 | 280 000 | — |
| | | Sporenformen | 8 000 | — | — |
| Mannschaftslatrinen | Agar | Gesamtzahl | 20 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 14 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 15 000 | — | — |
| | | Sporenformen | — | — | — |

Kgl. Schiff „Calabria“.

2. Beobachtung im St. Markusbecken. 5. Februar 1902.

| Lokale | Nährboden | Zählungsmethode aller Keime oder der alleinigen Sporenformen | Durchschnittszahl der Keime pro ccm | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | totale | der verflüssigenden | der Hyphomyceten |
| Deck | Agar | Gesamtzahl | 10 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 80 000 | — | 10 000 |
| | | Sporenformen | — | — | — |
| Korridor | Agar | Gesamtzahl | 193 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 15 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 90 000 | 10 000 | 20 000 |
| | | Sporenformen | 10 000 | 8 000 | — |
| Offiziersräume | Agar | Gesamtzahl | 30 000 | — | — |
| | | Sporenformen | — | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 65 000 | — | 10 000 |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |

Kgl. Schiff „Garigliano“. 13. Januar 1902.

| Lokale | Nährboden | Zählungsmethode aller Keime oder der alleinigen Sporenformen | Durchschnittszahl der Keime pro ccm | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | totale | der verflüssigenden | der Hyphomyceten |
| Deck | Agar | Gesamtzahl | 113 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 32 000 | — | 75 000 |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 787 000 | 100 000 | — |
| | | Sporenformen | 38 000 | 4 000 | — |
| Korridor | Agar | Gesamtzahl | 46 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 18 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 80 000 | 25 000 | — |
| | | Sporenformen | 6 000 | — | — |
| Kieldepots | Agar | Gesamtzahl | 136 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 60 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 226 000 | 70 000 | — |
| | | Sporenformen | 89 000 | 74 000 | — |

Kgl. Schiff „Archimede“. 12. Februar 1902.

| Lokale | Nährboden | Zählungsmethode aller Keime oder der alleinigen Sporenformen | Durchschnittszahl der Keime pro ccm | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | totale | der verflüssigenden | der Hyphomyceten |
| Deck | Agar | Gesamtzahl | 20 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 10 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 80 000 | 15 000 | 50 000 |
| | | Sporenformen | 18 000 | 18 000 | — |
| Offiziersräume | Agar | Gesamtzahl | 103 000 | — | — |
| | | Sporenformen | — | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 426 000 | 100 000 | 15 000 |
| | | Sporenformen | 8 000 | — | — |
| Maschinenräume | Agar | Gesamtzahl | 20 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 8 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 105 000 | 70 000 | 10 000 |
| | | Sporenformen | 8 000 | 4 000 | — |

Kgl. Torpedoboot 76. 19. Februar 1902.

| Lokale | Nährboden | Zählungsmethode aller Keime oder der alleinigen Sporenformen | Durchschnittszahl der Keime pro ccm | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | totale | der verflüssigenden | der Hyphomyceten |
| Deck | Agar | Gesamtzahl | 30 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 653 000 | 10 000 | 456 000 |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |
| Torpedokammer (Korridor) | Agar | Gesamtzahl | 263 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 10 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 2 160 000 | 20 000 | 830 000 |
| | | Sporenformen | 14 000 | — | — |
| Maschinenräume | Agar | Gesamtzahl | 100 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 46 000 | 15 000 | 20 000 |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |

Kgl. Schiff „Bausan". 18. Dezember 1901.

| Lokale | Nährböden | Zählmethode aller Keime oder der alleinigen Sporenformen | Durchschnittszahl der Keime pro ccm: Totale | der verflüssigenden | der Hyphomyceten |
|---|---|---|---|---|---|
| Deck | Agar | Gesamtzahl | 353 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 19 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 197 000 | 20 000 | 60 000 |
| | | Sporenformen | 6 000 | — | — |
| Korridor | Agar | Gesamtzahl | 385 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 16 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 645 000 | 80 000 | 35 000 |
| | | Sporenformen | 41 000 | — | — |
| Maschinenlokale | Agar | Gesamtzahl | 30 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 12 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 25 000 | — | 10 000 |
| | | Sporenformen | 20 000 | 20 000 | — |
| Kessellokale | Agar | Gesamtzahl | 60 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 20 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 120 000 | — | 40 000 |
| | | Sporenformen | 16 000 | 8 000 | — |
| Kambüse | Agar | Gesamtzahl | 400 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 34 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 493 000 | 55 000 | 65 000 |
| | | Sporenformen | 18 000 | 4 000 | — |

Kgl. Schiff „Stromboli". 2. Januar 1902.

| Lokale | Nährböden | Zählmethode aller Keime oder der alleinigen Sporenformen | Durchschnittszahl der Keime pro ccm: Totale | der verflüssigenden | der Hyphomyceten |
|---|---|---|---|---|---|
| Deck | Agar | Gesamtzahl | 550 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 12 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 86 000 | 15 000 | — |
| | | Sporenformen | 16 000 | 8 000 | — |
| Korridor | Agar | Gesamtzahl | 2 666 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 21 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 4 476 000 | 25 000 | — |
| | | Sporenformen | 12 000 | 6 000 | — |
| Lazarett | Agar | Gesamtzahl | 226 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 12 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 113 000 | 10 000 | 25 000 |
| | | Sporenformen | 7 000 | — | — |
| Maschinenlokale | Agar | Gesamtzahl | 233 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 23 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 283 000 | 35 000 | 20 000 |
| | | Sporenformen | 10 000 | — | — |
| Kesselräume | Agar | Gesamtzahl | 120 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 65 000 | 10 000 | 30 000 |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |

Kgl. Schiff „Etruria". 4. März 1902.

| Lokale | Nährboden | Zählmethode aller Keime oder der alleinigen Sporenformen | Durchschnittszahl der Keime pro ccm | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Totale | der verflüssigenden | der Hyphomyceten |
| Korridor | Agar | Gesamtzahl | 1 096 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 61 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 1 246 000 | 70 000 | 80 000 |
| | | Sporenformen | 15 000 | 14 000 | — |
| Unteroffiziersräume | Agar | Gesamtzahl | 60 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 10 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 10 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 8 000 | 8 000 | — |
| Maschinenlokale | Agar | Gesamtzahl | 10 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 75 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |
| Kesselräume | Agar | Gesamtzahl | 20 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 10 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 93 000 | 75 000 | 10 000 |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |

Kgl. Schiff „Volturno". 26. Februar 1902.

| Lokale | Nährboden | Zählmethode aller Keime oder der alleinigen Sporenformen | Durchschnittszahl der Keime pro ccm | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Totale | der verflüssigenden | der Hyphomyceten |
| Deck | Agar | Gesamtzahl | 40 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 10 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 610 000 | 50 000 | — |
| | | Sporenformen | 6 000 | — | — |
| Korridor | Agar | Gesamtzahl | 100 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 16 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 463 000 | 76 000 | — |
| | | Sporenformen | 16 000 | — | — |
| Lazarett | Agar | Gesamtzahl | 823 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 8 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 126 000 | 60 000 | — |
| | | Sporenformen | 4 000 | — | — |
| Kesselräume | Agar | Gesamtzahl | 180 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 6 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 50 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 9 000 | — | — |

„Esplatore". (Kaserne der Difeso Locale von Venedig). 20. Januar 1902.

| Lokale | Nährboden | Zählmethode aller Keime oder der alleinigen Sporenformen | Durchschnittszahl der Keime pro ccm | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Totale | der verflüssigenden | der Hyphomyceten |
| Deck | Agar | Gesamtzahl | 10 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 8 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 105 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 8 000 | — | — |
| Mannschaftsschlafraum (Korridor) | Agar | Gesamtzahl | 736 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 6 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 583 000 | 20 000 | — |
| | | Sporenformen | | | |
| Unteroffiziersraum | Agar | Gesamtzahl | 143 000 | — | — |
| | | Sporenformen | 22 000 | — | — |
| | Gelatine | Gesamtzahl | 866 000 | 210 000 | 10 000 |
| | | Sporenformen | 26 000 | 18 000 | — |

pflastert, besaß der Staub einen zwischen dem des Decks und demjenigen der Korridore gemischten Charakter.

In den Schlafsälen des Kasernenschiffes Difesa Locale und des Torpedobootes No. 76, deren Fußböden in geglättetem und gestrichenem Holz hergestellt waren, entsprach das Aussehen des Staubes demjenigen der Korridore.

Offiziersräume, Unteroffiziersräume und Lazarett. Der Staub dieser Lokale hatte das gleiche Aussehen wie derjenige der Korridore und war ebenfalls im allgemeinen trocken, ausgenommen in den Offiziersräumen der Calabria (1. Beobachtung), wo die Aufsammlung an einem Regentage vorgenommen wurde und der Fußboden von dem mittels des Schuhwerkes der Passanten hereingetragenen Wasser benetzt war.

Maschinenlokale. Der Staub war von zwei Teilen gebildet: einem trockenen, der aus Graphit, Rostkörnchen, Stroh, Härchen, Cigarettenstummeln, Mäusekot, Stückchen von Stearinkerzen etc. bestand, und einem feuchten, der aus mit fettigen Stoffen und Schmutz zusammengeballtem Werg gebildet ward.

Kesselräume. In diesem Staube herrschten Steinkohle und Asche vor; es fanden sich in demselben Rost, Werg, Papier, Stroh etc.

Kambüsen und Küchen. Im Staube dieser Lokale vermochte man die Ueberreste eines großen Teiles der frischen und getrockneten Nährmittel der Seemannsration zu erkennen (Brot, Reis, Bohnen, Knochensplitter etc.).

Kieldepots. Die als Beobachtungsobjekt dienenden waren diejenigen des Steuermanns auf dem Schiffe Garigliano und entsprechend dem darin aufgespeicherten Materiale enthielt der Staub Fasern von Tauen und Textilgeweben, Stückchen von Stearin, Tabak etc.

Mannschaftslatrinen. Der Fußboden der Latrinen, auf dem diese Untersuchungen vorgenommen wurden, ward beständig feucht erhalten durch die Bespülung der Abortsitze, so daß ich nur eine geringe Menge Staubes von den Wänden zu sammeln vermochte, dessen Zusammensetzung sich nicht mit Sicherheit feststellen ließ.

## 2. Menge der Keime.

In den nachfolgenden Tabellen gebe ich die Zahl der Keime wieder, die im Kehricht jedes Lokales der Schiffe enthalten waren, welche für diese Untersuchungen dienten, ich beschränke mich aber der Kürze willen darauf, nur das Mittel derselben für jeden Kubikcentimeter Staubes anzugeben und halte in besonderer Rubrik die die Gelatine verflüssigenden Keime und die Hyphomyceten (s. vorhergehende Tab.)

Wenn man nun aus den obengenannten Daten der Maximal-, Durchschnitts- und Minimalziffer der Keime für die verschiedenen Lokale zieht, erhält man die folgenden Resultate:

| Lokale | Maximalnummer per cc | | Minimalnummer per cc | | Durchschnittsziffer per cc | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Agar | Gelatine | Agar | Gelatine | Agar | Gelatine |
| Decks | 550 000 | 787 000 | 10 000 | 80 000 | 140 000 | 324 000 |
| Korridor | 2 666 000 | 4 476 000 | 36 000 | 35 000 | 559 000 | 1 038 000 |
| Offiziersräume | 103 000 | 426 000 | 10 000 | 65 000 | 47 000 | 283 000 |
| Unteroffiziersräume | 143 000 | 866 000 | 60 000 | 10 000 | 101 000 | 438 000 |
| Lazarette | 826 000 | 126 000 | 226 000 | 113 000 | 526 000 | 119 000 |
| Maschinenlokale | 233 000 | 283 000 | 10 000 | 25 000 | 76 000 | 106 000 |
| Kesselräume | 180 000 | 120 000 | 20 000 | 50 000 | 95 000 | 57 000 |
| Kambüsen | 400 000 | 1 860 000 | 166 000 | 493 000 | 283 000 | 1 176 000 |
| Küchen | — | — | — | — | 15 000 | 45 000 |
| Kieldepots | — | — | — | — | 136 000 | 226 000 |
| Mannschaftslatrinen | — | — | — | — | 20 000 | 15 000 |

Aus dieser Tabelle ergibt sich vor allem, daß die Zahl der meist entwickelten Keime größer in Gelatine und bei 22° als in Agar und bei 37° war, und einige von ihnen, die ich isolierte (zum größten Teile chromogene Sporen) und in gleicher Nährsubstanz (Bouillon) aussäte, zeigten eine schnellere und üppigere Entwickelung bei 22° bis 37°. Dies hängt wahrscheinlich davon ab, daß viele der Keime dieses Staubes wegen ihrer saprophytischen Natur mehr an die niedere Temperatur gewöhnt sind, um so mehr, als die vorliegenden Untersuchungen in den kalten Monaten des Jahres (vom 18. Dezember 1901 bis zum 4. März 1902) bei niedriger Temperatur der Umgebung vorgenommen wurden.

Wenn man nun die Verteilung der Keime für die verschiedenen Lokale des Oberdecks, die allgemein zu Wohnungen bestimmt sind (Decks, Korridore, Offiziers- und Unteroffiziersräume, Lazarette, Küchen und Latrinen), in Betracht zieht, findet man die größere Anzahl im Staube der Korridore; und dieses Faktum ist leicht verständlich bei der bedeutenden Anzahl von Personen, welche beständig diese Lokale passieren, in denselben ihre Mahlzeiten nehmen und abends ihre Hängematten zum Schlafen darin aufhängen.

Auf den Decks ist die Zahl der Keime trotz des großen Verkehrs von Personen der Besatzung und auch von Fremden erheblich geringer, und dies wird sowohl der Wirkung des direkten und weitverbreiteten Lichtes zugeschoben, das eine größere Fläche zur Entfaltung seiner baktericiden Aktion hat, als auch der Reinigungsmethode mit großer Wassermenge.

In den Offiziersmessen ist die Zahl der Keime ebenfalls geringer als auf den Decks und geringer auch als in denjenigen der Unteroffiziere; die Ursache hierin ist vielleicht darin zu suchen, daß diese letzteren Lokale

außer als Refektorien und Orte der Unterhaltung auch als Schlafräume dienen.

Die Lazarette, in denen unsere Untersuchungen vorgenommen wurden, gehörten jenen Schiffen an, die von langer Fahrt in heißen Ländern zurückkehrten und bis zu ihrer Ankunft in Venedig mit Kranken besetzt gewesen waren; von da ab dienten sie als Schlafstätten für die Krankenwärter und einige Unteroffiziere. Bemerkenswert ist das Faktum, aus dem dessenungeachtet wegen der geringen Zahl der Beobachtungen keinerlei Schluß gezogen werden darf, daß auf beiden derartigen Schiffen, im Gegensatz zum größten Teile der anderen Lokale, die Zahl der auf Agar zur Entwickelung gelangten Keime beträchtlich diejenige der in Gelatine entwickelten übertraf.

Die auf Oberdeck gelegenen Küchen boten eine absolut und relativ geringere Zahl Keime als das Deck, was sich vernünftigerweise dem Zementboden zuschieben läßt, der sich besser als der Holzboden reinigen läßt.

In den Mannschaftslatrinen ist der Fußboden bei dem System beständiger Irrigation immer feucht und der auf den Wänden gesammelte Staub hatte einen sehr geringen Bakteriengehalt.

Unter den Lokalen der unteren Decks, die zu Arbeiten und als Depots dienen, waren die Maschinenlokale, die Kesselräume und Kieldepots diejenigen, welche die geringste Zahl der Keime aufwiesen, die höchste Zahl der letzteren hingegen wiesen die Kambüsen auf, ein Faktum, welches sich in der verschiedenen Zusammensetzung des Staubes, hauptsächlich Mineralsubstanzen (Graphit und Steinkohlen) im ersteren, und organische Substanzen im zweiten Falle (Speisereste), erklären läßt.

In Hinsicht auf die Schiffe und ohne mich in eine Einzelanalyse zu verlieren, war die Zahl der in gleicher Menge Staubes der Wohnräume enthaltenen Keime geringer auf den armierten als auf denjenigen in Disponibilität, obschon auf den ersten die Anhäufung und deshalb die Rückstände- resp. Abfallstoffbildung erheblich größer war; und dieser Unterschied kann nur von den verschiedenen Reinlichkeitsverhältnissen abhängen, die ich früher schon hervorhob. Das gilt besonders für die Korridore, wo auf den armierten Schiffen jeden Morgen eine sorgfältige und längere Abwaschung vorgenommen wird, während auf den in Disponibilität befindlichen dieselbe kürzer und oberflächlicher ist und nur alle 2 oder 3 Tage vorgenommen wird.

Zur Stütze für diese Anschauungen seien nur zwei Beispiele angeführt:

Auf dem Stromboli, der sich seit 10 Tagen auf dem Trockendock befand, und auf dem sich die Reinigung auf ein oberflächliches Abkehren beschränkte, betrug die Zahl der Keime per Kubikzentimeter im Staube der Korridore 2666000 in Agar und 4476000 in Gelatine, und auf der „Etruria“, wo seit 2 Tagen vor der Prüfung keine Abwaschung stattgefunden hatte, war die Zahl der Keime 1086000 und 1246000; im Gegenteil beschränkte sie sich auf den armierten Schiffen auf 100000 oder etwas weniger. Jedoch war der Bakteriengehalt des Korridors auf dem Torpedoboot 76, obschon dasselbe in Armierung war, beträchtlich; indessen setzte er sich vorwiegend aus Hyphomyceten zusammen, und die Ansiedlungsbedingungen dieser kleinsten Typen sind zu speziell, als daß sich die an ihnen ausgeführten Untersuchungen in ihren Resultaten mit denjenigen auf Schiffen großen Stiles vergleichen lassen.

Gleichermaßen wurde in den Arbeitslokalen die geringere Zahl auf

den armierten Schiffen angetroffen, mit Ausnahme der Kambüse; aber der größere Verkehr und die ausgiebigere Schmutzanhäufung auf den Kambüsen der in Armierung befindlichen Schiffe geben uns den Grund für dieses Vorwiegen, das hier nicht, wie dies in den Wohnräumen statthat, von der Reinigung behindert wird, die in diesen Lokalen auf allen Schiffen gleich ist.

Der Bakteriengehalt auf dem gleichen Schiffe und in den gleichen Lokalen schwankt in engen Grenzen, wie die beiden an verschiedenen Tagen vorgenommenen Beobachtungen auf der „Calabria“ zeigen.

Die vorherrschenden mikroskopischen Spezies waren von Schizomyceten dargestellt. Unter ihnen waren die nicht verflüssigenden vorherrschend und den ersten Posten nahmen die Kokken ein, die den größten Teil der Kolonieen bildeten; ihnen folgten die Bacillen, unter denen die häufigsten der wurzelförmige Proteus vulgaris, fluorescens non liquefaciens, fluorescens liquefaciens, mesentericus und verschiedene chromogene waren.

Reichlich waren die Dauerformen, und die Beziehung dieser zu den vegetativen war im allgemeinen höher als diejenige, die in den verschiedenen bis jetzt zur Prüfung gelangten Straßen- und Hauskehrichten gefunden wurden.

Die Blastomyceten waren sehr spärlich.

Auch die Hyphomyceten waren zumeist durch wenige Kolonieen dargestellt; dieser Mangel könnte zum Teil jedoch nur scheinbar sein, weil die Entwickelung des Schimmels gewöhnlich langsamer als diejenige der Schizomyceten ist und bei der Ausführung der Zählung auf den Gelatineplättchen nach 4 Tagen einige hyphomycetische Keime keine Zeit zur Entwickelung hatten.

Ausnahme macht das Torpedoboot No. 76, auf dem sowohl im Staube der Decks wie in demjenigen der Torpedokammer die Zahl der Hyphomyceten bedeutend war. In diesen Lokalen bestanden besondere Bedingungen, welche einigen Einfluß auf die Vervielfältigung der Hyphomyceten hätten ausüben können, so die mit Linoleum vorgenommene Belegung des Decks im Gegensatz zu den großen Schiffen, und die außerordentliche Anhäufung in der Torpedokammer; aber ob der Ueberreichtum des Schimmels von den obenerwähnten Faktoren abhängt oder im Gegenteil in Beziehung steht zu besonderen, dem Staube dieser kleinen und überfüllten Schiffe eigentümlichen Bedingungen, habe ich nicht klar stellen können.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden im Winter vorgenommen, d. h. zu einer Zeit, wo die Bedingungen der umgebenden Temperatur der Vervielfältigung der Mikroorganismen weniger günstig sind, sodaß die Mengen der angetroffenen Keime als die geringsten des Jahres anzusehen sind. Immerhin ist die Differenz gegenüber den heißen Monaten nicht sehr hoch zu schätzen, wenn man in Betracht zieht, daß Manfredi[1]), der Versuche mit dem Straßenstaub anstellte, auf den sich die atmosphärischen Einflüsse direkt bemerkbar machen, kaum nennenswerte Schwankungen in den verschiedenen Jahreszeiten beobachtete.

### 3) Pathogene Keime.

Die 39 Staubproben wurden gemäß den weiter oben berichteten Methoden 39 Meerschweinchen auf peritonealem Wege und ebensovielen subkutan inokuliert.

---

1) Ueber die Verunreinigung der Straßenoberflächen in den großen Städten. (Akten der Regia Accad. Scienze fis. e nat. Serie II. Vol. IV. Neapel 1891.)

Von der ersten Reihe starben 4 und die verbleibenden erhielten sich wie alle diejenigen der zweiten Reihe durch mehr als $2^1/_2$ Monate gesund.

Das erste Meerschweinchen starb 16 Tage nach der Einführung von in den Kessellokalen des „Bausan“ gesammelten Staube, und in den frischen und gefärbten Präparaten des Blutes und der peritonaelen Flüssigkeit zeigte sich die Gegenwart eines Coccus, der, mit den Kulturen der gleichen Flüssigkeiten isoliert, sich als der Staphylococcus pyogenes albus ergab.

Das zweite, dem im Korridor des „Stromboli“ gesammelter Staub ins Peritoneum eingeführt worden war, starb nach 32 Tagen und, wie die Sektion und die Kulturen ergaben, ebenfalls durch den gleichen Keim.

Das dritte, welches die peritoneale Einverleibung des Staubes des Maschinenlokals desselben Schiffes „Stromboli“ erlitten hatte, starb nach einem Monat durch Streptokokkenseptikäme.

Das vierte schließlich, inokuliert ins Peritoneum mit Korridorstaub von der „Calabria“ (zweite Beobachtung), starb 14 Tage danach an Septikäme mittels Staphylococcus pyogenes citreus.

Die aus diesen Tieren isolierten Keime waren mit sehr geringer Virulenz begabt, wie dies aus dem sehr langen Infektionsverlauf und aus den Versuchen der Einimpfung der Kulturen in andere Meerschweinchen erwiesen ist. Dieses Resultat stimmt mit denjenigen Manfredis[1]) überein, der die pyogenen Keime, die er aus dem Straßenkehricht isolierte, wenig virulent fand.

Die pathogenen Keime boten sich 3mal auf den 4, für unsere vorliegenden Untersuchungen als Objekte dienenden, in Disponibilität befindlichen Schiffen dar und einmal nur auf den 6 in Armierung befindlichen (gerechterweise in diese das Kasernenschiff einbeziehend) und diese Tatsache hängt nach meiner Meinung ausschließlich von den schon früher erwähnten verschiedenen Reinlichkeitsverhältnissen ab. Es wird dies noch besser zur Klarheit gebracht durch den Umstand, daß sich 2mal auf 4 die pathogenen Keime auf demselben Schiffe „Stromboli“ fanden, das, da es seit wenigen Tagen in Disponibilität und in die Werft gestellt war, in weniger lobenswerten Reinlichkeitsverhältnissen sich befand, als alle anderen Schiffe.

Unter den verschiedenen zur Prüfung gezogenen Lokalen wurde die Gegenwart pathogener Keime 2mal in den Korridoren (bei 10 Beobachtungen), einmal in den Maschinenlokalen (bei 5 Beobachtungen), und einmal in den Kesselräumen (bei 4 Beobachtungen) gezeigt.

Die Gegenwart der pathogenen stand nicht in direkter Beziehung zu der Gesamtmenge der Keime. In Wirklichkeit, während pathogene Bakterien im Korridorstaub des „Stromboli“ sich fanden, existierten dieselben auch in demjenigen der „Calabria“, dessen Bakteriengehalt einer der geringsten war; so fand ich deren ebensowohl im Staube der Maschinenlokale des „Stromboli“, der relativ eine große Anzahl Mikroben aufwies, als in denjenigen der Kessellokale des „Bausan“, der eine geringe Menge Mikroben enthielt.

Auf der „Calabria“ waren die pathogenen Keime bei der ersten Beobachtung nicht vorhanden, aber sie erschienen bei der zweiten, als die Reinlichkeitsverhältnisse durch Austritt des Schiffes aus dem Arsenal merklich bessere waren; es handelt sich jedoch um Staphylokokken,

1) l. c.

außerordentlich verbreitete Keime, so daß sich also auf dieses Vorkommnis keinerlei Urteil aufbauen läßt.

## Schlüsse.

Die Reinlichkeit bildet eines der hauptsächlichsten Postulate für die Hygiene der Wohnungen und in besonderer Weise der Sammelwohnungen, seien diese Kollektivbehausungen des Festlandes oder nautische; die Resultate der vorliegenden Untersuchungen, die uns eine gutel dee von der Reinlichkeit der Schiffe geben, sind deshalb sicherlich befriedigende.

In der Tat läßt sich aus dieser Arbeit schließen, daß die Sauberkeit der in Armierung befindlichen Schiffe ohne Ausnahme ausgezeichnet ist; daß sie gut oder mittelmäßig auf den in Disponibilität stehenden ist und daß sie minderwertig nur auf den nicht armierten und auf der Werft befindlichen ist. Die Ursache dieses Unterschiedes besteht vor allem in den auf den einen und anderen für die Reinigung angewendeten Methoden; auf den armierten Schiffen wird die Reinigung eine Stunde hindurch und noch länger allmorgendlich mittels ausgiebiger Waschungen, Abreibungen, Abstäubungen etc. vorgenommen; auf den in Disponibilität befindlichen besteht die Reinigung hauptsächlich im Auskehren, und der Gebrauch des Wassers ist weniger häufiger und in der Menge beschränkter; auf den auf der Werft befindlichen Schiffen wird die Reinigung notwendigerweise nur trocken vorgenommen.

Zu diesen Schlüssen berechtigt nicht nur die verschiedene Menge des gesammelten Staubes, sondern auch die Zahl der Keime und die Gegenwart der pathogenen unter ihnen. Es wäre interessant, einen Vergleich anzustellen zwischen der Menge der Keime, die ich im Kehricht der Schiffe fand, und derjenigen, die sich nach anderen Autoren in den Kollektivwohnungen des Festlandes vorfindet, aber wegen der bemerkenswerten Unterschiede in der Technik läßt sich ein solcher Vergleich nicht zu ziehen.

Der Vergleich ist hingegen möglich und nützlich, insofern er das Vorhandensein der pathogenen Keime im Staube betrifft. In der Tat wissen wir, daß Turina[1]) bei Inokulierung des erdigen Staubes vom Fußboden verschiedener Militärkasernen Turins in Kaninchen in 12 Malen bei 12 Proben den Tetanusbacillus antraf. In meinen Versuchen fanden sich im Gegenteil die pathogenen Keime nur 4mal bei 39 Proben vor, und zwar 3mal die pyogenen Staphylokokken, deren außerordentliche Ansiedlungsfähigkeit bekannt ist, und einmal der pyogene Streptococcus, ein Keim, der ebenfalls in der Natur weit verbreitet ist.

Diese Resultate sind jedenfalls der Erwägung wert.

Es ist bekannt, daß unter Beiseitelassung der Durchschnittszahlen der Morbosität, die gleichermaßen höher im Heere sind, denen man aber Einwürfe entgegenstellen könnte, die Sterblichkeit und die späteren Zurückweisungen im Heere eine fast doppelt so große Durchschnittszahl als auf der Flotte ergeben und in der statistischen Periode von 1873 bis 1894[2]) betrugen die Durchschnittssterblichkeit

---

1) Ueber das beständige Vorkommen des Nikolayerschen Bacillus im Staube der Wohnungen. (Giorn. R. Soc. It. d'Igiene. 1890.)

2) Zeri, Sanitäre Statistiken der Flotten und Heere der hauptsächlichen Nationen Europas. (Ann. di Med. Nav. 1897.)

| | | |
|---|---|---|
| im Heere | 9,62 | Proz. |
| auf der Flotte | 4,40 | „ |
| und die späteren Zurücksetzungen | | |
| im Heere | 14,01 | „ |
| und auf der Flotte | 6,93 | „ |

Ohne Zweifel wäre es nun ein großer Fehler, anzunehmen, daß die größere Verunreinigung der Luft der Kaserne gegenüber den Schiffen der einzige oder auch nur hauptsächlichste Faktor der besseren sanitären Verhältnisse der Flotte abgibt, da viele andere und bedeutende Koeffizienten, auf die einzugehen hier nicht der Ort ist, daran teilnehmen; immerhin scheint es mir aber, daß auch dieses Faktum in Erwägung gezogen werden müsse. Uebrigens zeigen die sanitären Statistiken in der Flotte selbst, daß die Morbosität des eingeschifften Personales wesentlich geringer als diejenige des für das Land bestimmten Personales ist und daß die Salubrität der Schiffe höher steht, als diejenige der Kasernen des Königlichen Heeres. Da die hauptsächlichsten Faktoren der Salubrität der Wohnungen im allgemeinen essentiell in der Versorgung mit reiner Luft und mit gutem Trinkwasser, sowie in den guten Abfuhrvorrichtungen für die Ausscheidungen und in der Reinlichkeit bestehen, so laufen die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen den schon bekannten über die anderen Faktoren zur Seite, um Klarheit zu geben über die größere Salubrität der Schiffsumgebung.

---



# Ueber eine Fischepidemie bei Bukarest.

[Arbeiten aus dem pathologisch-bakteriologischen Institute zu Bukarest.]

Von Prof. **V. Babes** und Prof. **P. Riegler** in Bukarest.

Mit 1 Tafel.

Der große Fischreichtum Rumäniens läßt es geboten erscheinen, auch die Krankheiten der Fische, insofern dieselben die Fischzucht behindern oder für den Menschen schädlich werden können, speziell zu studieren. In der Tat konnten wir Fälle von Vergiftung konstatieren, welche Fischepidemieen vortäuschten, in anderen Fällen waren die Fische von tierischen Parasiten befallen (*Ligula*), welche eine größere Sterblichkeit der Fische (Cypriniden) verursachten, endlich konnten wir in seltenen Fällen *Bothriocephalus*-Finnen in Hechten finden, was mit dem Vorkommen des *Bothriocephalus* in Rumänien auch beim Menschen zusammenhängt. In der Tat konnte einer von uns (Babes, Académie de médecine 1895) nicht nur mehrere Fälle von *Bothriocephalus* beim Menschen konstatieren, welcher Parasit in Bukarest durchaus nicht selten ist, sondern in 2 Fällen von tödlicher Anämie konnte auch diese Krankheit auf die Gegenwart von Bothriocephalen zurückgeführt werden.

In Bezug des Befundes von *Ligula* ist es nicht ohne Interesse, zu erwähnen, daß dieselben mehrfach mit Jugendformen menschlicher Tänien verwechselt wurden, so daß infolgedessen der Fischfang in mehreren sehr fischreichen Seeen untersagt wurde. Erst auf Grund unserer Untersuchungen, welche die Natur der Parasiten feststellten, wurden die Seeen wieder in Pacht gegeben, was dem Staate bedeutende Einkünfte sicherte.

Andere Parasiten, wie Myxosporidien, welche Geschwülste erzeugen und den Fischen einen bitteren Geschmack verleihen, dann Nematoden, Distomeen, Schimmelkrankheiten, wohl sekundärer Natur, haben weniger Bedeutung. Akute Fischvergiftungen sind in Rumänien nicht bekannt, obwohl Fische in großen Mengen getrocknet und gesalzen oft in ausgesprochener Fäulnis in den Handel kommen und von den Landleuten reichlich genossen werden. Vielleicht tragen dieselben irgendwie zum Zustandekommen der Pellagra, jener chronischen Vergiftung und Inanition des rumänischen Bauern bei, welche allerdings wesentlich dem Genuß schlechten Maises zugeschrieben werden muß.

Vergiftungen, welche an anderen Orten durch die zeitweilige Giftigkeit gewisser Organe der Fische, so des Rogens und der Milch älterer Fische in der Laichzeit, oder der Leber, zustande kommen, sind hingegen hier nicht bekannt.

Ebensowenig wurde bisher in Rumänien die Ursache des Sterbens der Fische in gewissen Gegenden und Zeiten genauer untersucht.

Nun liegen mehrere Beobachtungen aus verschiedenen Ländern über Fischepidemieen vor, und wollen wir zunächst in Kürze dieselben erwähnen, um dieselben mit einer im Frühling dieses Jahres bei Bukarest aufgetretenen zu vergleichen. Manchmal starben zu gewissen Zeiten die Fische eines Flusses oder Seees und können selbst zeitweise gänzlich aussterben. Eine derartige größere Epidemie wurde in den Jahren 1867—68 im Genfer See bei Barschen beobachtet, noch häufiger entsteht eine große Sterblichkeit in künstlichen Fischzüchtereien, so daß dieselbe oft die Forellenzucht oder Karpfenzucht unmöglich macht. An der Oberfläche der kranken oder toten Fische findet man dann schleimige oder schimmelige Auflagerungen, welchen die Erkrankung der Tiere zugeschrieben wurde.

Im Jahre 1892 beschrieben Fischel und Enoch (1) im hygienischen Institut zu Prag einen Bacillus, welcher bei einer Fischepidemie aus einem verendeten Karpfen gewonnen wurde. Der Bacillus bildet Sporen, ist nach Gram färbbar, bereitet ein durch Kochen zerstörbares Toxin und ist für Mäuse und Meerschweinchen pathogen. Im folgenden Jahre beschrieb Bataillon (5) in der Pariser Acad. des sciences eine Epizootie bei Forellen, bei welcher in den Fischen und an deren Eiern ein dem Bact. termo ähnlicher Bacillus gefunden wurde. Nach der Beschreibung desselben handelt es sich wahrscheinlich um einen Proteus, welcher sich von Proteus vulgaris hauptsächlich durch die grüne Verfärbung der Gelatine unterscheidet. Bei Hechten verursacht derselbe den Tod nach 3 Tagen unter Erscheinungen von Lähmung, indem die Muskeln von Bacillen durchsetzt angetroffen werden. Auch Krebse erliegen dem Bacillus unter den Erscheinungen der Krebspest, während Frösche unter Lähmungen zu Grunde gehen. Der Autor meint, daß die Krankheit sich durch den Laich der Fische fortpflanzt.

Emmerich und Weibel (2) beschrieben im Jahre 1894 eine Epidemie unter den Forellen, namentlich unter den schönsten Exemplaren, an welchen Pusteln und Abscesse mit Abfall der Schuppen auftraten. Unter dem Mikroskop finden sich die Organe von Bacillen durchsetzt, welche den Typhusbacillen ähneln. Namentlich die Muskeln enthalten zahlreiche hämorrhagische Herde oder solche von Rundzellen mit zahllosen extra- oder intracellulären Bacillen, häufig in Lymphgefäßen sitzend. Der Bacillus scheint die Gelatine auszuhöhlen und zu konsumieren

(wahrscheinlich langsame Verflüssigung mit konsekutiver Austrocknung), wächst nicht auf Kartoffel, ebensowenig auf verschiedenen Substanzen bei Körpertemperatur, am besten bei 20°. Injektion der Kultur verursacht bei Forellen Pustelbildung und Tod nach 8—14 Tagen. Aehnliche Bacillen wurden im Darminhalt auch gesunder Fische gefunden, welche, anderen Fischen injiziert, ebenfalls den Tod derselben herbeiführen, doch ohne die charakteristischen Veränderungen und mit weniger Bacillen im Innern der Organe. Nachdem konstatiert wurde, daß die Krankheit jährlich zur Laichzeit in einem bestimmten Abschnitte der Anlage auftrat, wurde dieser von Morästen umgebene Abschnitt gründlich gereinigt und drainiert, worauf die Seuche aufhörte.

Im Jahre 1893 beschreibt Charrin (4) in der Pariser Société de biol. eine Fischseuche in der Rhône, besonders bei Cypriniden und Barben. Unter anderem wurde in den befallenen Fischen ein für Fische pathogener Bacillus gefunden. Eine Kultur, in einen Behälter mit Fischen gebracht, verursacht den Tod derselben, und in Muskeln und Blut werden die Bacillen wiedergefunden. Es sind dies bewegliche Stäbchen, die Gelatine langsam verflüssigen, Milch unter Säurebildung koagulieren, auf Kartoffel einen dicken gelben Ueberzug bilden. Nur größere Mengen von Kultur oder deren alkoholische Präcipitate verursachen nach mehreren Tagen oder Wochen den Tod der Fische.

Canestrini (3) beschreibt im Jahre 1893 einen Bacillus bei einer Aalseuche, indem in deren Organen ein dem Cholerabacillus ähnliches Stäbchen gefunden wurde, welches wohl für Fische und Frösche, nicht aber für Kaninchen, Meerschweine und Mäuse pathogen war und besser in Salzwasser als in süßem Wasser gedeiht.

Frau Sieber-Schoumowa (7) beschreibt unter dem Namen „Bacillus piscicidus nobilis“ ein proteusartiges Stäbchen, welches aus den Organen von Fischen bei einer Seuche in Petersburg isoliert wurde. Dasselbe ist sehr beweglich, wird nach Gram entfärbt und bildet Sporen (?). Dieselben widerstehen einer Erwärmung auf 70° nicht. Aus den Kulturen wurden Toxine gewonnen, welche durch Kochen zerstört werden. Dasselbe Stäbchen wurde auch aus dem Wasser des Bassins isoliert, in welchem die Seuche aufgetreten war. Nach Injektion oder per os verursacht der Bacillus oder die Toxine desselben den Tod der Tiere in 1—3 Tagen.

Im Jahre 1898 beschreibt O. Wyss (8) in der Zeitschr. f. Hyg. eine Epizootie bei *Leuciscus rutillus* (Plötze), indem zahlreiche Fische an der Oberfläche des Züricher Sees tot angetroffen wurden. Nach 3 Wochen hörte das Sterben auf. Man glaubte, daß die Infektion einiger Quellen die Krankheit verursacht hätte. Die Fische starben besonders in der Nähe des Ufers. Die kranken und die toten Fische zeigten an der Körperoberfläche gelbe Flecke, andere waren von Hämorrhagieen bedeckt und durchsetzt. Im Blute und in den Organen fanden sich diplokokkenähnliche oder stäbchenförmige Bakterien von 0,5—0,6 $\mu$ Dicke. Dieselben wachsen auf den gebräuchlichen Nährsubstanzen, verflüssigen Gelatine und bilden an der Oberfläche der Bouillon ein feines Häutchen. In der Tiefe der Gelatine entstehen längs des Impfstiches feine radiäre Fäden. An der Oberfläche irradiieren und emigrieren die Stäbchen, ähnlich dem Proteus vulgaris. Auf Kartoffel haben die reichlichen Kolonieen broncegelbe Farbe und produzieren dieselben Gase und am-

moniakalischen Geruch. Die Stäbchen sind sehr beweglich, mit zahlreichen Geißeln, sie färben sich nach Gram.

Fischen injiziert, verursachen dieselben den Tod nach 1—2 Tagen, manchmal mit gelben Flecken an der Oberfläche. Der Bacillus ist pathogen für Mäuse und Meerschweine, $^1/_{10}$ ccm verursachen den Tod in weniger als 24 Stunden. Weyl giebt an, denselben Bacillus aus dem Darm gesunder Fische kultiviert zu haben, doch war der Bacillus dieses Ursprungs weniger pathogen. Es handelte sich im letzten Falle um Proteus vulg., welchen Wyss mit dem pathogenen Proteus identifizieren will, obwohl letzterer Milch nicht koaguliert, auf Kartoffel viel schwächer wächst, und sich nach Gram nicht färbt. Wyss versucht die Epidemie so zu erklären, daß das Wasser gesunken und die Temperatur während der Epizootie sehr erhöht war, was die Resistenz der Fische vermindert haben konnte.

Auch andere kaltblütige Wassertiere fallen öfters Proteus-Infektionen zum Opfer. So ist der im Jahre 1890 von Ernst (6) beschriebene „B. ranicida“, welcher im Frühjahr, wenn die Temperatur des Wassers steigt, zahlreiche Frösche tötet, offenbar ein Proteus, welcher sich von Proteus vulgaris bloß durch geringe blaue Opalescenz der Agarkulturen unterscheidet.

Ende Mai letzten Jahres schickte der Distriktsarzt von Ilfov, Dr. Blasianu, mehrere verendete Fische, kleine Karpfen, Karauschen und Schleie, an unser Institut mit der Mitteilung, daß seit einigen Tagen die Fische mehrerer kleiner Seen, welche durch ein kleines Flüßchen zusammenhängen, in großer Menge sterben.

Zu gleicher Zeit fand man auch am Ufer zahlreiche verendete Frösche.

Es bestand der Verdacht, daß die Abwässer einer Mühle und einer Glukosefabrik irgend eine giftige Substanz enthielten und die Fische vergiftet hätten. In der Tat fanden sich in der Umgebung eines Sees Ansammlungen faulender Abwässer aus einer der Fabriken.

Wir konnten noch konstatieren, daß die 3 Seen Herestreu, Floreasca und Teiul Dómnei nacheinander infiziert wurden und daß der Abfluß des Wassers durch Mühlen und Schleußen sowie durch Schlamm sehr behindert war. Das Wasser der Seen war in der Nähe des Ufers sehr warm, 24—28° C, trübe und von eigentümlichem morastigem Geruche, während dasselbe in der Mitte klar und kühler angetroffen wurde. Im Norden des Sees fließen Abwässer der Fabrik teils klar, teils trübe, sehr warm und reich an organischen Substanzen in den See. Außerdem besitzt die Fabrik durchlässige Reservoirs, in welchen das Wasser sehr trübe und von fötidem Geruch ist.

Die toten Fische sinken zunächst auf den Grund und erheben sich später infolge von Gasentwickelung, sie erkranken offenbar in der Nähe des Ufers und den Stellen, welche verunreinigt und überwärmt sind, und werden dann durch den Wind und die Strömung an gewisse Stellen getrieben, wo sie in großer Menge gesammelt wurden. Es handelt sich um Karpfen (*Cyprinus carpus*), Karauschen (*Carassus carassius*), Schleie (*Perca fluviatilis*), Hechte (*Esox lucius*) und Rötlinge (*Leuciscus rutillus*), welche zum Teil noch lebend, matt und kaum beweglich angetroffen wurden. Die kranken Fische sind besonders durch ihre blasse Färbung erkenntlich, hier und da bemerkt man an denselben oberflächliche Ekchymosen. Wir haben zugleich eine größere Quantität Wasser aus

den Seen mitgebracht und wurde dasselbe an verschiedenen Stellen der Seen bakteriologisch untersucht.

Ein Teil der kranken Fische wurde im Wasser aus den Seen belassen, andere in reines stagnierendes und eine dritte Gruppe in reines fließendes Wasser gebracht. Endlich wurden gesunde Fische aus anderen Gegenden in das infizierte Seewasser, andere wieder zusammen mit kranken Fischen in reines, nicht fließendes, und eine letzte Gruppe mit kranken Fischen zusammen in reines fließendes Wasser gebracht. Zugleich wurden aus den Organen der frisch verstorbenen Fische Kulturen angelegt. Alle tot gefundenen Fische waren derart von verschiedenen Bakterien durchsetzt, unter welchen verschiedene für andere Fische pathogen waren, daß dieselben für unsere Untersuchungen nicht verwertet werden konnten.

Ueberhaupt sind die kranken Fische, welche träge werden und an die Oberfläche kommen, um an der Luft zu atmen, während das Maul und die Kiemen heftig arbeiten, bald von einer schleimigen Bakterien- und Schimmelmasse bedeckt. Die Kiemen werden bald blaß und von weißlichen Flecken bedeckt, welche zusammenfließen. Vor dem Tode sinken die Fische auf den Grund. Die meisten kranken Fische waren nach wenigen Stunden verendet. Von 6 gesunden Fischen, welche in Wasser aus den Seen gebracht wurden, gingen 5 nach 4—5 Stunden zu Grunde, nachdem sie vorher die erwähnten Krankheitssymptome gezeigt hatten. 6 Kontrollfische hingegen, welche in frisches Wasser gebracht wurden, blieben lange am Leben. Während unter 20 kranken, aus Herestreu gebrachten Fischen alle 10, welche in Wasser aus dem See verblieben waren, nach wenigen Stunden zu Grunde gingen, blieben von 10 kranken Fischen, welche in klares fließendes, filtriertes Flußwasser gebracht wurden, 9 am Leben und wurden gesund.

Hingegen starben alle 5 kranken Fische, welche in nicht fließendes, aber klares, frisches Wasser gebracht wurden, im Verlauf von 48 Stunden. Bemerkenswert ist besonders der Umstand, daß selbst schwerkranke Fische oft genesen, wenn dieselben in frisches, fließendes Wasser gebracht werden.

Selbst wenn ins fließende Wasser tote Fische gebracht wurden, blieben die eingesetzten gesunden Fische gesund. Nur jene Fische, welchen 0,3—0,5 ccm Blut von kranken Fischen unter die Haut gespritzt wurde, gingen nach 1—2 Tagen selbst in fließendem Wasser zu Grunde.

Von den kranken und gesunden Fischen wurden unter den nötigen Kautelen Kulturen aus Blut und Organen angelegt, und wurde gewöhnlich aus Blut, Muskeln, Leber, Milz und Nieren ein und dieselbe Bakterienart erhalten. Manchmal allerdings war dieselbe mit anderen Bakterien, namentlich mit einem dem Proteus vulg. identischen Stäbchen, manchmal mit Bacillen aus der Coli-Gruppe oder mit Mikrokokken vermengt.

In Wasser aus den Seen konnte das typische Bakterium ebenfalls in einigen Exemplaren der Kolonieen erkannt und reingezüchtet werden. Das Wasser enthielt unzählbare Kolonieen im Kubikcentimeter, besonders in jenem, welches im Institute zu Versuchen diente, mußten sehr ausgiebige Verdünnungen angewendet werden, worauf hier aber ebenfalls das aus den Fischen gewonnene Bakterium neben coliähnlichen und anderen proteusartigen Stäbchen sowie zahllosen anderen Wasserbakterien erhalten wurde.

Aus dem Darminhalte der kranken Fische wurde ebenfalls neben zahllosen anderen krummen oder sporenhaltigen, coliartigen Bacillen, namentlich neben Proteus vulgaris, unser Bacillus gezüchtet, während wir denselben aus dem Darminhalte von gesunden Fischen anderer Provenienz nicht erhalten konnten.

Der isolierte Bacillus zeigt zunächst die Charaktere der Proteus-Gruppe, sowie überhaupt die meisten aus Fischseuchen isolierten Bakterien dieser Gruppe zugezählt werden müssen.

Derselbe bildet auf Agaragar nach 2 Tagen an der Oberfläche flache, runde, durchscheinende, etwas gelbliche, honigähnliche Kolonieen, von einer sehr dünnen, gänzlich durchsichtigen, anscheinend glattrandigen Zone umgeben. In der Tiefe entsteht längs des Impfstiches ein ausgesprochener, gelblich-weißer, gekörnter Streifen. Der Bacillus entwickelt sich gut bei Temperaturen von 20—37°, am besten etwa bei 20° C, wo die Kolonieen reichlicher und etwas schleimig oder kleisterartig erscheinen. Die gelbe Farbe der Kultur wird mit der Zeit dunkler und macht nach einem Monat einer braunen, körnigen Pigmentierung Platz. Die Kolonieen verbreiten einen deutlichen Fäulnisgeruch (Trimethylamin). Auf alten Kulturen entstehen häufig frische Kolonieen, infolge welcher die Kolonieen treppenartig ansteigende, bedeutende Erhabenheiten bilden können.

Auf Gelatineagar sind die Kolonieen weißlich, weniger durchscheinend, reichlicher, mit weniger ausgesprochenem Geruche.

In Zuckeragar im luftleeren Raume ist die Entwickelung ebenfalls reichlich, die Oberfläche von einer dünnen, glänzenden, durchscheinden Schicht bis zum Rande bedeckt, und auch längs des Impfstiches ist die Entwickelung reichlich. Der Geruch ist mehr aromatisch. Die Agarsäule ist durch heftige Gasentwickelung in Scheiben zersprengt. Mit der Zeit erhält die Kultur dunkelgelbe Farbe, ebenso ist die umgebende Nährsubstanz, namentlich an den oberflächlichen Teilen, gelbbraun verfärbt. Die Gasentwickelung ist am reichlichsten bei 20° C.

Auf Glycerinkartoffel entstehen zunächst an der Oberfläche reichliche, konfluierende, schleimige, durchscheinende Kolonieen. Namentlich an den höherstehenden Teilen der Kartoffel verfärbt sich die Kolonie ziegelrot oder rotbraun, indem auch die Kartoffel in der Umgebung braun verfärbt ist. Häufig unterscheidet man dann an der Kartoffel von oben nach unten heller werdende Verfärbungen. Zunächst tritt eine braune, dann braungrüne Färbung der Kartoffel, dann die zunächst dunkelrotbraune Kultur auf, die nach unten ziegelrot, dann fleischfarben wird, während an den feuchten untersten Teilen eine gelbliche Färbung persistiert (Fig. 6).

Am charakteristischsten sind Gelatinekulturen, welche anfangs allerdings an jene von Proteus vulgaris oder von Cholera asiatica erinnern. Schon nach 24 Stunden bildet sich trichterartige Verflüssigung, während längs des Impfstiches ein kompakter weißer Faden auftritt. Später entsteht aber an der Oberfläche eine dicke, zusammenhängende Haut von Rosafarbe, unter welcher der oberflächliche verflüssigte Anteil eine dunkelgelbe Farbe annimmt. Der unter der gänzlich verflüssigten Zone stehende Trichter hat eine blasse Rosafarbe. Dann erkennt man in der, wie bei einer älteren Cholerakultur, dicken, gewundenen, längs des Impfstiches entwickelten Bakterienmasse von oben

nach unten eine rötliche, dann grüngraue, dann weiße und ganz unten wieder eine rötliche Verfärbung (Fig. 5). Noch nach Wochen bleiben die tieferen Gelatinelagen fest.

In flüssigen Nährböden bildet sich an der Oberfläche eine derbe, retikulierte Haut, so auf Bouillon, welche etwas trübe und dunkelgelb gefärbt wird, während am Grunde wenig bräunlicher, pulverulenter Niederschlag entsteht.

In Laktose ist der Niederschlag reichlicher, in Peptonwasser ist die gelbbraune Verfärbung der oberflächlichen Schichten mehr ausgesprochen.

Milch wird koaguliert und sauer und an der Oberfläche entsteht eine dicke Rahmhaut, welche nach mehreren Wochen hellrot gefärbt erscheint.

Alle diese Färbungen sind in glycerinhaltigem Nährboden schwächer und bleiben oft in bei Körpertemperatur gehaltenen Kulturen gänzlich aus.

Die erwähnten Kulturen bestehen aus Stäbchen, welche von jenen des Proteus vulgaris kaum unterschieden werden können. Bloß in frischen Kulturen erkennt man scharf umschriebene, gut färbbare Kurzstäbchen, später sind gut gefärbte, wellig gebogene Fäden von ungleicher Dicke (0,4—1,0) häufig, in denen aber die Hauptmasse der Kultur aus dünnen (0,4), geraden oder aus dicken (0,8—1,0), ovalen, schwer färbbaren Gebilden besteht, in welchen oft an den Polen chromatische oder metachromatische kleine Kügelchen angetroffen werden (Fig. 1—4).

In frischen Kulturen, namentlich auf Agar, könnten die parallel gestellten Stäbchen mit Bacillen aus der Coli-Gruppe verwechselt werden, allerdings sind schon hier die Stäbchen durch breite Zwischen- oder Kapselsubstanz voneinander getrennt, aber schon wenige Tage alte Kulturen zeigen jene ovalen, sehr ungleich gefärbten, durch reichliche Zwischensubstanz getrennte Formen, dann Kolben und wellige Fäden mit verdickten chromatischen Enden, dann dicke Kommaformen und überhaupt jenen Formenreichtum, welcher der Proteus-Gruppe eigen ist. Auf glycerinhaltigen Nährböden, namentlich auf Glycerinagar, sind die Bacillen auffallend dünn, etwa den Rotzbacillen vergleichbar, allerdings erkennt man auch hier häufig kolbige Formen und ungleich dicke, wellige Fäden. Auch im Organsafte der kranken Fische werden, allerdings in spärlicher Anzahl, blasse, oft krumme Stäbchen von ähnlichem Charakter gefunden, namentlich in den hämorrhagischen Herden sind dieselben häufiger. Sie werden durch die Gramsche Methode entfärbt, und zwar selbst bei sehr kurzdauernder Entfärbung. Bei Behandlung nach Bunge werden an den Bacillen zahlreiche oder spärlichere, kürzere oder längere Geißelfäden, von verschiedenen Teilen der Peripherie ausgehend, gefunden.

Mittels dieser Bakterien wurden Versuche angestellt, um die Rolle derselben in der Erkrankung der Fische festzustellen.

Zunächst wurde eine Bouillonkultur in ein Gefäß mit 5 l reinen Wassers geschüttet und in dasselbe 5 gesunde Fische gebracht, dieselben erblaßten und erkrankten nach wenigen Stunden und nach 24 Stunden waren alle gestorben, während von 5 gesunden Fischen, welche in einem ähnlichen Gefäße mit frischem Wasser aufbewahrt wurden, nur 1 Fisch tot angetroffen wurde. Alle 10 gesunden Fische, welche zu gleicher Zeit in ein Gefäß mit fließendem Wasser gebracht wurden, blieben gesund.

Einige Tropfen Bouillonkultur wurden einer Karausche subkutan, 2 andere 2 Schleien intramuskulär, dann einem Karpfen intravaskulär injiziert, dieselben wurden in fließendes Wasser gesetzt, erkrankten sämtlich und starben nach 24—36 Stunden.

Aehnlich verhielten sich sterile Filtrate aus älteren, reichlich entwickelten Bouillonkulturen (durch Chamberlandsche Filter filtriert).

50 ccm Filtrat wurden mit 5 l reinen Wassers gemengt und in dieses Wasser 5 Fische gesetzt, 3 derselben wurden nach 24 Stunden tot gefunden, während 2 sehr krank waren. Dieselben wurden in fließendes Wasser gebracht und erholten sich nach wenigen Tagen gänzlich.

5 gesunde Fische aus demselben Fange, in 5 l reinen Wassers gesetzt, waren am nächsten Tage noch gesund, und es starb bloß einer am 3. Tage.

Nun wurden 2 Fischen (einer Karausche und einer Schleie) je 2 ccm Filtrat intramuskulär injiziert und dieselben in fließendes Wasser gesetzt. Sie gingen trotzdem in 36—48 Stunden zu Grunde, während 2 andere Fische, mit bloß 1 ccm injiziert, über 14 Tage widerstanden.

Die mit geringen Mengen der Kultur injizierten Fische können längere Zeit am Leben bleiben, doch erkranken dieselben und sterben nach mehreren Tagen, ebenso nach Injektion älterer Kulturen mit Schwellung und Hämorrhagie an der Impfstelle, sowie mit hämorrhagischen Flecken an der Oberfläche, namentlich an den Schuppen, manchmal auch in inneren Organen. An der Impfstelle findet man dann Anhäufung von Leukocyten und Bacillen, zerstreut oder in unregelmäßigen Häufen, öfters in Lymphgefäßen, sowie Auffaserung, Desintegration und körnige Nekrose, homogene Entartung der Muskelfasern (Fig. 7 *d*, *d' d''*), öfters mit Bacilleninvasion in enger Beziehung zur Entartung (Fig. 7 *b*).

Injektion von 0,2 ccm Kultur tötet Mäuse nach etwa 4—6 Tagen mit Abscessen und Nekrose an der Impfstelle. Größere Menge von frischer Kultur (1—2 ccm) verursachen auch bei Kaninchen eine mehr chronisch verlaufende Allgemeinerkrankung und den Tod nach etwa 10—15 Tagen, während Meerschweinchen, mit gleichgroßen Dosen injiziert, am Leben blieben.

Frösche hingegen sind dem Bacillus gegenüber etwa so empfindlich wie Fische, allerdings widerstanden sie öfters der Injektion älterer Kulturen.

Obwohl schon die bisherigen Untersuchungen deutliche Unterschiede zwischen diesem Bacillus und dem Proteus vulgaris erkennen ließen, war es geboten, namentlich den Behauptungen von Wyss gegenüber, welcher den Bacillus einer Fischepidemie mit Proteus vulgaris identifizieren will, unseren Bacillus mit Proteus vulgaris zu vergleichen.

Zunächst gelang es uns in einem Falle, neben unserem Bacillus auch einige Kolonieen von Proteus vulgaris aus den Organen zu isolieren. Derselbe unterschied sich schon von Anfang an von unserem Bacillus und ließ in Parallelkulturen die so charakteristischen Farbenveränderungen unseres Bacillus vermissen. Auch aus dem infizierten Wasser und aus dem Darminhalte von Fischen züchteten wir den Proteus vulgaris, welcher sich ganz so verhielt, wie unsere Originaltestkultur dieses Bacillus und also ganz verschieden vom pathogenen Proteus der Fische.

Es wurden nun 2 Karauschen und 2 Schleien mit 1—2 ccm frischer Proteus vulgaris-Kultur geimpft und in reines Wasser gesetzt.

Dieselben blieben gesund, während dieselbe Menge unseres Bacillus die Kontrolltiere prompt tötete. Ebensowenig gingen Tiere zu Grunde, denen 10 ccm Proteus vulgaris-Kultur zu 5 l reinen Wassers zugesetzt wurden, während die Kontrolltiere, denen 10 ccm unseres Bacillus zugesetzt wurden, innerhalb 48 Stunden zu Grunde gingen.

Allerdings konnte man beobachten, daß Fische auch Proteus vulgaris gebenüber nicht indifferent sind, indem Injektionen größerer Mengen Fische, wenn auch viel später, krank machen und töten können. Aehnlich wie Proteus vulgaris verhält sich auch Coli commune, Finkler-Priors Vibrio, Streptokokken, Staphylokokken; dieselben verursachen, in gleicher Menge dem Wasser zugesetzt, keine Erkrankung der Fische, und nur viel größere Mengen derselben oder deren Produkte haben schädlichen Einfluß auf die Fische.

Interessant sind in dieser Beziehung noch unsere Versuche, mittels Blutes der kranken Fische unseren Bacillus zu agglutinieren. In der Tat ist selbst bei akutem Verlaufe, also schon nach 24 Stunden dauernder Krankheit, das Blut imstande, im Verhältnis von 1 : 50 und oft auch mehr die Bacillen zu agglutinieren. Dieses Vermögen ist aber noch gesteigert, wenn die Fische länger leben.

Wenn man nun solches Blut oder Serum etwa im Verhältnis von 1 : 20—1 : 50 mit lebhaft beweglichen Proteus vulgaris-Kulturen zusammenbringt, erfolgt keinerlei Agglutination.

Auch Proteus vulgaris aus dem Darme kranker Fische zeigt keine oder ganz geringe Agglutination gegenüber dem Blute kranker Fische.

---

Nachdem die Epidemie etwa 3 Wochen lang angedauert hatte, verschwand sie ohne irgend einen Eingriff, wohl infolge von Witterungseinflüssen, indem die abnorm hohe Temperatur einer kühlen Platz machte. Wir empfahlen auf Grund unserer Versuche Reinigung der Seen, Behinderung des Zuflusses von Schmutzwässern, besonders aber die Regelung eines reichlichen Zu- und Abflusses des Wassers, sowie endlich Drainierung des Bodens an jenen Stellen, an welchen sich in der Umgebung der Seen Moräste bildeten.

Es erhellt aus diesen Untersuchungen, daß die Epizootie der 3 Seen durch ein Bakterium verursacht war, welches der Proteus-Gruppe zugezählt werden darf, sowie überhaupt die meisten bisher beschriebenen Fisch-, Frosch- und Krebsseuchen Proteen ihren Ursprung zu verdanken scheinen (Emmerich, Bataillon, Charrin, Canestrini, Wyss, Sieber-Schoumowa, Ernst etc.).

Es ist aber von größter Wichtigkeit, zu erforschen, ob alle diese Seuchen von demselben Bakterium oder von verschiedenen anderen Arten oder Varietäten oder ob dieselben, wie Wyss für seine Fälle voraussetzt, von dem Proteus vugaris herrühren, welcher bekanntlich im Darme gesunder Fische, sowie im Wasser von Fischteichen mit gesunden Fischen fast immer gefunden wird.

Zunächst sind wir nicht imstande, die verschiedenen, bei Fischseuchen gefundenen Bakterien zu identifizieren, indem dieselben gewöhnlich unvollkommen beschrieben sind und die Untersuchung in verschiedenen Fällen verschiedenartig ausgeführt wurde. So hätte vielleicht eine längere Beobachtung oder die Anwendung moderner Unterscheidungsmerkmale in manchen Fällen hierüber wichtige Aufschlüsse gebracht.

Soviel können wir indessen behaupten, daß unser Bacillus mit einem solchen, welcher bloß in großen Mengen (Charrin) die Fische tötet und erst nach längerer Zeit (Fischel, Enoch, Emmerich), dann einem solchen, welcher eine Pusteleruption und Geschwüre erzeugt (Emmerich), mit einem solchen, welcher Sporen bildet (Fischel-Enoch, Sieber-Schoumowa?), einem solchen, welcher einen grünen oder blauen fluorescierenden Farbstoff bildet (Bataillon, Ernst), welcher bei Körpertemperatur nicht wächst (Emmerich), welcher für Säugetiere nicht pathogen ist (Canestrini) wohl nicht identisch ist. Allerdings wäre es möglich, daß sich eine oder die andere der Angaben bei näherer Prüfung als irrig oder nicht absolut richtig herausstellen würde, doch sind wir nicht berechtigt, dies a priori anzunehmen.

Weniger entscheidend sind einzelne andere Merkmale, welche aber in ihrer Gesamtheit ebenso sicher den Ausschluß gewisser beschriebener Formen zulassen.

Namentlich der von Wyss beschriebene Proteus ist dem unserigen ähnlich, doch unterscheidet sich jener durch gewisse Charaktere ganz scharf sowohl vom Proteus vulgaris als von unserem Bacillus. Es erscheint mir in der That gewagt, einen Bacillus, welcher sich nach Gram färbt, welcher Milch koaguliert, welcher auf Kartoffel üppig wächst, mit einem Bakterium zu identifizieren, welches sich nach Gram nicht färbt, Milch nicht koaguliert und auf Kartoffel nicht wächst, auch die entschieden gelbe Farbe des Bacillus Wyss unterscheidet denselben vom Proteus vulgaris.

Unser Bacillus weicht mehr vom Bacillus Wyss als vom Proteus vulgaris ab, von welchem derselbe dennoch durch sein eigentümliches Farbenspiel, sowie durch seine biologischen Eigenschaften (Pathogenität und Agglutination) scharf getrennt werden kann.

Es ist wichtig, diese Unterschiede zu betonen und namentlich hervorzuheben, daß auch Wyss' Untersuchungen durchaus nicht dazu berechtigen, dessen Bacillus mit Proteus vulgaris zu identifizieren. Weder Wyss noch wir selbst konnten mittels Proteus vulgaris die eigentümliche, mit Bildung gelber Flecken einhergehende Fischkrankheit erzeugen, welche Wyss beschreibt, und unser Bacillus erzeugt auch keine derartigen Flecken.

In der That wären die Fischseuchen nicht zu erklären, wenn dieselben vom überall vorhandenen Proteus vulgaris verursacht würden. Namentlich haben unsere Versuche doch gezeigt, daß ganz geringe Mengen unseres Bacillus, in stehendes Wasser gebracht, die Fische schnell töteten, während Proteus vulgaris oft in großer Anzahl im Wasser vorkommt, ohne Seuchen zu verursachen.

Ueberhaupt ist es ratsam, angesichts der Spezifizität der Seuchen die Epidemien verursachenden Bakterien nicht auf Grund gewisser Gruppencharaktere mit saprophyten Bakterien zusammenzuwerfen, und dies ist um so weniger dort gerechtfertigt, wo sich tatsächlich tiefgreifende Unterschiede im Verhalten der Bakterien äußern.

Ich würde selbst angesichts eines einzigen der erwähnten Merkmale zögern, derartige Bakterien zu identifizieren, wo aber, wie im gegenwärtigen Falle, eine Reihe von Unterschieden zwischen unserem Bacillus und dem Proteus vulgaris besteht, namentlich in Betreff der Milchgerinnung, der Reaktion, des Wachstums auf verschiedenen Nährböden (namentlich Kartoffel), des Temperaturoptimums, der Gramschen Färbung, der Pigmentbildung, der Agglutination und Pathogenität, fühlen

wir uns vollauf berechtigt, unseren Bacillus, welcher allerdings in die Proteus-Gruppe gehört und dem Proteus vulgaris nahe steht, von demselben als natürliche Varietät scharf zu trennen.

Hiermit soll nicht gesagt sein, daß unter bestimmten Verhältnissen nicht die unterscheidenden Merkmale der Varietäten verschwinden oder aus dem Proteus vulgaris eine pathogene Varietät entstehen könne. Es sind dies aber unbewiesene Voraussetzungen, und selbst, wenn es gelingen würde, eines oder das andere Unterscheidungsmerkmal zu tilgen, würde dies noch keineswegs die Identität der beiden Bacillen beweisen, ebenso wie es durchaus nicht bewiesen ist, daß ein pathogener Streptococcus, welcher im Reagenzgläschen seine Virulenz, seine Kapsel und auch andere distinktive Charaktere verloren hat, in der That zu einem banalen saprophytischen Kettencoccus geworden ist.

Namentlich wenn es sich, wie in unserem Falle, um eine epidemische Krankheit handelt, müssen wir um so mehr an der Spezifizität des Krankheitserregers festhalten. Allerdings wäre es möglich, daß der Proteus vulgaris selbst unter gewissen Einflüssen allmählich zu der pathogenen Varietät geworden sei, doch haben wir für eine solche Annahme keinen Anhaltspunkt und weist die Analogie mit anderen Epidemieerregern auf eine größere Stabilität des Bacillus hin.

Mehrere Autoren haben die Prädisposition der Fische zur Erkrankung namentlich bei heißer Witterung und bei Reichtum des Wassers an organischen Stoffen betont, und auch ich wäre geneigt gewesen, diesen Umständen größeres Gewicht beizulegen, wenn uns das Experiment nicht gezeigt hätte, daß gesunde Fische unter allen Umständen nach der Impfung mit unserem frischen Bacillus zu Grunde gehen.

Dennoch haben wir eine Tatsache gefunden, welche in dieser Beziehung eine Einschränkung nötig macht. Es ist dies das Verhalten der Fische in stehendem und in fließendem Wasser.

Zunächst muß erklärt werden, warum die kranken Fische, in fließendes Wasser gebracht, gesund werden, und warum kranke Fische gesunde in fließendem Wasser nicht anstecken.

Es geht aus unseren Versuchen hervor, daß diese heilende Wirkung des fließenden Wassers nur dann beobachtet wurde, wenn die Fische nicht durch direkte Impfung erkrankt waren. In der That ist unser Bacillus zunächst ein starker Giftbildner und auch die Krankheit mehr toxischer Natur, indem die Bacillen im Körper der verendeten Fische nur spärlich angetroffen werden und indem die filtrierten Produkte schon in geringen Dosen dieselbe Krankheit hervorrufen. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß die Bacillen unter natürlichen Verhältnissen durch die resorbierenden Oberflächen (Kiemen, Verdauungskanal etc.) eindringen und alsbald Toxine bilden, welche aber leicht eliminiert werden können.

Nur wenn dieses Gift sich auch in der Umgebung der Fische in größerer Menge angehäuft hat, ist die Eliminierung desselben behindert und der Organismus wird dann durch das gesättigte Gift angegriffen und zerstört. Wenn die Fische aber aus dem toxinhaltigen Wasser in fließendes Wasser gebracht werden, steht der Eliminierung und Auswaschung des Giftes nichts mehr im Wege und die Fische genesen.

Insofern können wir allerdings zugeben, daß zum Zustandekommen der Epidemie nicht nur die Gegenwart des pathogenen Bacillus, sondern auch eine Ansammlung von Toxin oder von anderen löslichen Substanzen im Wasser nötig ist, welche die Eliminierung des Toxins verhindert.




Fig. 5. Fig. 6.

Es ist dies ein Verhalten, welches vielleicht für die Erklärung des Auftretens und Aufhörens auch anderer Epidemieen herangezogen werden darf, und ist es lehrreich, zu sehen, wie die Verkennung dieses Umstandes uns dazu verleiten kann, die Spezifizität eines Krankheitserregers anzuzweifeln oder einer individuellen oder zeitlichen Disposition übertriebene Bedeutung einzuräumen.

Wir wollen unseren, die hiesige Fischseuche erregenden Mikroorganismus „Proteus piscicidus versicolor“ nennen.

---

**Litteratur.**


1) Fischel und Enoch, Ein Beitrag zu der Lehre von den Fischgiften. (Fortschr. d. Med. Bd. X. 1892.)
2) Emmerich und Weibel, Ueber eine durch Bakterien erzeugte Seuche unter den Forellen. (Arch. f. Hyg. Bd. XXI. 1894.)
3) Canestrini, La malattia dominante delle anguille. (Atti del R. Istituto veneto di sc. Ser. VII. 1892/93.)
4) Charrin, L'infection chez les poissons. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1893.)
5) Bataillon, Contribution à l'étude de la peste des eaux douces. (Compt. rend. de l'acad. des scienc. T. CXVIII. 1894.)
6) Ernst, Die Frühjahrsseuche der Frösche und ihre Abhängigkeit von Temperatureinflüssen. (Beiträge z. pathol. Anat. u. allgem. Pathol. Bd. VIII. 1890.)
7) Sieber-Schoumowa, Zur Frage nach dem Fischgifte, Bacillus piscicidus agilis, krankheitserregender Schmarotzer der Fische. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. 1895.)
8) Wyss, Oscar, Ueber eine Fischseuche durch Bacterium vulgare (Proteus). (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. 1898.)


---

**Erklärung der Tafel.**

Proteus piscicidus versicolor.

Fig. 1. Trockenpräparat aus frischer Agarkultur, mit polychrom. Methylenblau gefärbt. Vergr. 1000.
Fig. 2. Desgl. aus älterer Agarkultur.
Fig. 3. Desgl. aus frischer Glycerinagarkultur.
Fig. 4. Desgl. aus Kartoffelkultur.
Fig. 5. 3 Wochen alte Gelatinekultur.
Fig. 6. 3 Wochen alte Kartoffelkultur.
Fig. 7. Muskelveränderungen infolge der Einwirkung des Proteus. *m*, fast normale Muskelfaser, *m'* Beginn der Auffaserung, *m''* Längsfaserung, *d*, Lockerung und Verwirrung der Längsfasern, *d'* Lockerung und körnige Entartung, *d''* hyaline Entartung (Erstarrung) und Querspaltung der Muskelfaser, *d'''* körnige Entartung (Nekrose) und Fragmentierung der Faser, *b*, Bacillen in Längsspalten der Faser, *b'* Bacillen in enger Beziehung zur Entartung und Lakunenbildung der Faser.

---



# Bemerkungen über die Entdeckung des Parasiten der seuchenhaften Hämoglobinurie des Rindes (Texasfieber, Tristeza etc.) und des „Càrceag“ des Schafes.

[Aus dem pathologisch-bakteriologischen Institute zu Bukarest.]

Von Prof. **V. Babes**, Bukarest.

Mit 4 Figuren.

Nur nach langem Zögern habe ich mich entschlossen, in eigener Sache wieder das Wort zu ergreifen, namentlich um mich verschiedenen

bedeutenden Forschern gegenüber zu verteidigen, welche zwar die Priorität meiner Entdeckung des Parasiten obiger Krankheit im Jahre 1888 nicht in Abrede stellen, jedoch meine Untersuchungen über denselben bemängeln, sowie um einige neue Erfahrungen über den Parasiten und die durch denselben verursachten Krankheiten zu liefern.

Die Bemängelung meiner Befunde beruht zum Teil auf ungenügender Kenntnis, obwohl meine Untersuchungen mehrfach in rumänischer, französischer und deutscher Sprache veröffentlicht wurden [1]), zum anderen Teil in meinen oft zu kurz gehaltenen Mitteilungen, obwohl meine schon im Januar 1889, also vor Th. Smiths erster Mitteilung, erschienene Arbeit „Ueber die seuchenhafte Hämoglobinurie der Rinder“ in Virchows Archiv ziemlich ausführlich gehalten und mit zahlreichen Abbildungen versehen ist. Aber auch diese Arbeit scheint wenig gelesen worden zu sein, indem besonders meine sorgfältigen histologischen und anatomischen Untersuchungen der Krankheit, welche in dieser Arbeit niedergelegt sind, von späteren Bearbeitern der Krankheit gänzlich übersehen wurden.

Es sei mir zunächst gestattet, auf einige meiner früheren Publikationen zurückzukommen.

Meine erste Mitteilung an die Académie des sciences zu Paris vom 29. Oktober 1888 über die seuchenhafte Hämoglobinurie lautet wie folgt:

„Diese in Rumänien, insbesondere in den niederen und sumpfigen Teilen in der Nähe der Donau, endemische Krankheit ist lange Zeit mit der Rinderpest verwechselt worden, allein nachdem die Pest in Rumänien getilgt war, widerstand diese Krankheit sämtlichen polizeilichen Sanitätsmaßregeln. Die Krankheit erscheint jeden Sommer an gewissen Stellen, von wo aus sich dieselbe in einer beschränkten Gegend ausbreitet und große Verheerungen anrichtet. In früheren Jahren erlagen bis 30000 kräftige Rinder dieser Seuche, während die Kühe für gewöhnlich widerstehen und die Kälber entschieden nicht empfänglich sind. Ich habe Infektionsherde in der Umgebung schlecht gehaltener Brunnen und in der Umgebung der ursprünglichen Krankheitsherde festgestellt. Die Seuche endet gewöhnlich wenige Tage nach deren Auftreten.

Die ersten Symptome bestehen in Entkräftung, Verlust der Eßlust, Gehbeschwerden. Das Fieber ist hoch, die Atmung und der Puls beschleunigt; der rötliche Harn ist eiweiß- und oft auch hämoglobinhaltig; manchmal besteht Verstopfung, ein anderes Mal Durchfall und Tenesmus.

Wenn die Krankheit auf diese Stufe gelangt ist, pflegen einige der Tiere sich wieder zu erholen; andere, und das ist die Mehrzahl, werden immer schwächer, magern ab, liegen darnieder, zeigen ein Ansteigen der fieberhaften Erscheinungen, ihr Harn ist dunkelrot, beinahe schwarz, sie leiden an Mukelzittern, tränen und haben ein geringes Oedem des Unterhautgewebes.

Bei der Sektion findet man leichte Hyperämie des Pharynx und des Larynx, Kongestion, Katarrh und Ekchymosen der Darm- und Magenschleimhaut.

Im Labmagen in der Nähe des Pylorus findet man stets entweder hämorrhagische Erosionen oder kleine oberflächliche Geschwüre, oft von einem brandigen Sequester bedeckt. Die Schleimhaut des Duodenums ist stark hyperämisch geschwellt und oft ekchymotisch, von einem dicken, bräunlichen Schleime bedeckt. Der Dünndarm enthält oft viel bräunlich-rote Flüssigkeit und hämorrhagische Entzündungsherde, sowie Substanzverluste der Schleimhaut, die vom Pentastomum denticulatum veranlaßt sind. Die Schleimhaut des Dickdarmes ist oft ekchymotisch und von gelatinösem Schleime bedeckt; derselbe enthält trockene, verbrannt aussehende Fäkalmassen. Die Darmfollikel sind nur wenig verändert; im Gebiete der modifizierten Abschnitte des Darmes ist das subperitoneale Gewebe ödematös und hämorrhagisch. Die peritonealen Drüsen sind ge-

1) Compt. rend. de l'acad. d. scienc. Paris. 29. Okt. 1888; Virchows Archiv. Januar 1889; Compt. rend. de l'acad. d. scienc. Paris 1890; Ann. de l'Institut de bactériologie. Bucarest 1888/89; Internat. med. Kongreß. Berlin 1890; Cornil-Babes, Les bactéries. 3. Aufl. Mai 1890; Starcovici, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. 1893. No. 1.

schwellt, injiziert, weich. Das retroperitoneale Gewebe ist stets hämorrhagisch und ödematös. Die Nieren sind vergrößert, von schwärzlich-roter Färbung, brüchig. Die Schleimhaut des Nierenbeckens ist ekchymotisch und von gelblichem Schleime bedeckt. Die Harnblase ist mit dunkelrotem Harn gefüllt. Die Leber ist vergrößert, blaß, marmoriert, brüchig. Die Milz ist geschwellt, schwärzlich, mit diffluenter Pulpa.

Wie ersichtlich ist trotz der Aehnlichkeit gewisser Symptome mit denen der Rinderpest oder dem bösartigen Katarrhalfieber, handelt es sich doch um eine entschieden andere Krankheit.

In dieser Krankheit findet man immer ein charakteristisches Bakterium, das rund und glänzend ist, etwa 0,5 μ im Durchmesser, in der Mitte durch einen Streifen in 2 Teile geteilt, andere Male in 4 mittels eines zweiten queren Streifens. Dasselbe, das dem Gonococcus ähnlich sieht, bildet oft Diplokokken, läßt sich mittels basischer Anilinfarben färben, nur schwer nach der Gramschen Methode, und entfärbt sich durch Alkoholbehandlung. Es ist in trockenen Präparaten gut sichtbar oder noch besser in Schnitten, die erst mit Loefflerschem Blau, dann mit der gleichen konzentrierten alkoholischen Lösung und schließlich mit Anilinöl und Xylol behandelt sind. Färbt man dasselbe mit Methylviolett, dann erscheint dasselbe größer, namentlich von rhombischer Gestalt; die beiden einen Diplococcus bildenden Individuen sind an ihren Enden mittels eines intermediären Fadens aneinander gebunden.

Im Herzen und in den großen Gefäßen sind sie frei, an den roten Blutkörperchen haftend oder häufiger in denselben gelegen. Im hämorrhagischen Oedem und in den Nieren sind sie noch zahlreicher, auch hier ist ihr Vorhandensein in den roten Blutkörperchen festzustellen. Die roten Blutkörperchen sind infolgedessen modifiziert, weniger stark gefärbt und nur wenig widerstandsfähig. An den Schnitten aus dem Magen, insbesondere in der Gegend der kleinen Geschwüre, ist das oberflächliche, nekrosierte Gewebe gar nicht gefärbt. Zahlreiche Bakterien verschiedener Art sind im Inneren der Drüsen vorhanden. Die Diplokokken befinden sich in den kleinen, oberflächlichen, erweiterten Gefäßen, die sie ausfüllen. In den Mesenterialdrüsen finden sich große Massen von Bakterien, die kleiner sind als diejenigen in den Gefäßen, und zwar im Plasmanetz, woselbst sie kleine Gruppen von je 4 oder auch mehreren Individuen bilden. Für gewöhnlich enthält die Leber keine Bakterien. In den centralen Teilen der Lappen sind die Leberzellen homogen, gelblich, während die intralobulären Kapillaren mit zerfallenen, stark gefärbten Zellen ausgefüllt sind. Die Milzpulpa enthält zahlreiche große Zellen, die mit gelbem Pigment ausgefüllt sind, während die Bakterien oft im Inneren der roten Blutkörperchen an der Peripherie der Kapillarvenen gelegen sind. Die Kapillargefäße der Nieren und der Knäuel sind stark erweitert; man sieht keine intakten roten Blutkörperchen, sondern diese Gefäße sind von Mikroben ausgefüllt, die von einer Zone umgeben sind; diese Zone entspricht, was Form und Größe anbetrifft, den roten Blutkörperchen. Das Protoplasma der Epithelialzellen der Schläuche ist gelblich und oft pigmenthaltig; die Kerne sind nur schwach gefärbt oder sie sind geschwunden. Schließlich trifft man die Bakterien oft in den kleinen Arterien und in den Kapillaren der anderen Organe und der Muskel.

Wenn ein gesundes Rind mit geringen Mengen Blutes eines kranken Rindes geimpft wird, so wird die Krankheit für gewöhnlich nicht übertragen. Wird ein Rind mit den Krankheitsprodukten genährt, so bekommt dasselbe nur ein leichtes fieberhaftes Unwohlsein. Die Impfung mit dem Blute, der Oedemflüssigkeit, dem Harn und selbst mit den Kulturen, die wir bei Schafen, Schweinen, Meerschweinchen, Hühnern und Tauben vornahmen, hatten keine Erkrankung zur Folge, während aber Ratten und Mäuse manchmal für die Impfung empfänglich sind. Namentlich aber bekommen die Kaninchen eine fieberhafte, oft mit dem Tode endende Krankheit, wenn mit dem Blute oder der Oedemflüssigkeit geimpft, ebenso wenn sie mit den Krankheitsprodukten oder mit den Kulturen genährt werden. Bei der Autopsie fand man eine Hyperämie, Oedem und Ekchymosen des Peritoneums und der Darmwände, Durchfall und oft Pericarditis und fibrinöse Pleuritis. Die Bakterien befinden sich in den kleinen Gefäßen, insbesondere in denjenigen der Leber und in den Exsudaten und im Oedem; oft sind sie in Kügelchen eingeschlossen, die die Charaktere der veränderten roten Blutkörperchen aufweisen.

Die Parasiten konnten bei Körpertemperatur auf gewissen Nährsubstanzen gezüchtet werden.

Obwohl es uns nicht gelungen ist, durch die Injektion des Blutes des kranken Rindes beim gesunden Rinde eine ähnliche Krankheit hervorzurufen, ist es doch unzweifelhaft, daß die oben beschriebenen Bakterien die Erreger dieser Krankheit sind."

Aus dieser Beschreibung erhellt demnach, 1) daß ich zuerst die Charaktere der seuchenhaften Hämoglobinurie des Rindes festgestellt habe; 2) daß ich zuerst die pathologische Anatomie der Krankheit

studiert habe; 3) daß ich zuerst den im Inneren der Blutkörperchen sitzenden Parasiten gesehen, genau beschrieben, abgebildet und konstatiert habe, daß derselbe nur bei dieser Krankheit des Rindes vorkommt. Ferner habe ich 4) noch im Jahre 1888 den im Inneren der roten Blutkörperchen sitzenden Parasiten in der Académie de médecine in Paris durch Herrn Prof. Cornil




Fig. 1.

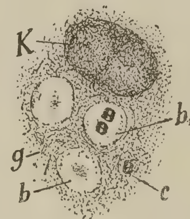



Fig. 2.

Fig. 1. Nierenblut aus einem an Hämoglobinurie leidenden, getöteten Ochsen. Mittels Methylviolett gefärbt. (Camera lucida, 1000-fach vergr.) *K* Kerne, *b*, rote Blutkörperchen, *b*,, rote Blutkörperchen, die Parasiten enthaltend, *c* freie, in 4-Teilung begriffene, von einer gefärbten Zone umgebene Parasiten.

Fig. 2. Ein ähnliches Präparat, mit Methylenblau gefärbt. Buchstabenbedeutung wie oben. *g* granulierte Grundsubstanz.

(Es sind dies meine ersten Abbildungen des Parasiten aus den Separatabdrücken meiner Mitteilung an die Acad. des sciences vom 29. Oktober 1888.)

demonstrieren lassen. 5) habe ich im selben Jahre Präparate unter anderen den Herren Geheimrat R. Koch, R. Virchow, Nocard, C. Fraenkel, Baumgarten etc. zukommen und demonstrieren lassen. Diese hochgeehrten Forscher haben sich insgesamt für die wesentliche Bedeutung des Befundes ausgesprochen, indem sich einige derselben allerdings über die Stellung des Parasiten im Systeme nicht aussprachen, andere denselben als Bacterium, andere als Protozoon deuteten. 6) habe ich in meiner ersten Mitteilung die beiden Erscheinungsformen, die runde und die rhombische, sowie die Teilungsvorgänge desselben genau beschrieben und abgebildet (Fig. 1) und namentlich auch die glänzenden Körperchen in demselben beobachtet. 7) Schon in meinen ersten Mitteilungen habe ich auf die Analogie dieser Krankheit und des Texasfiebers aufmerksam gemacht.

Niemand, der von diesen Tatsachen Kenntnis hatte, konnte an meiner Priorität der Entdeckung des Parasiten zweifeln, auch ist aus der ersten „Preliminary"-Mitteilung Herrn Th. Smiths über den Parasiten vom 29. Dezember 1889 zu ersehen, daß dieser Forscher nicht nur Kenntnis von meinen Befunden hatte, sondern auch zur Darstellung derselben sich der zuerst von mir angegebenen Methoden bediente. Dieser verehrte Kollege be-

hauptet auch allerdings nirgends, daß der Parasit nicht von mir entdeckt worden sei.

Es erscheint demnach befremdend, daß die späteren Forscher immer mehr dazu neigen, mir das Verdienst der Entdeckung des Parasiten dieser Krankheit, wenn auch nicht abzusprechen, so doch möglichst zu schmälern oder meine Entdeckung einfach zu ignorieren.

Diese Autoren begründen dieses Verhalten mit der Behauptung, daß ich zwar die Parasiten der Krankheit zuerst gesehen, aber nicht richtig gedeutet habe.

Zunächst muß ich hierauf erwidern, daß bisher noch niemand die Stellung des Parasiten bestimmt hat, und hoffe ich, daß meine Anschauung, daß demselben eine Zwischenstellung zwischen Bakterien und Protozoen zukomme, mit der Zeit Beachtung gewinnen wird. Wenn dem so ist, so kann es mir nicht als Fehler angerechnet werden, daß ich anfangs geneigt war, den Parasiten den Bakterien zuzuzählen, und dies um so weniger, als auch andere Forscher, welche den Parasiten und die zuerst von mir, dann von H. R. Pfeiffer ausgeführten Photogramme desselben (Les Bactéries. III. Aufl. Mai 1890 und Internat. med. Kongr. Berlin. 1890) gesehen haben, geneigt waren, den Parasiten als ein Bakterium zu betrachten.

Uebrigens selbst wenn ich mich anfangs in der Stellung des Parasiten im Systeme getäuscht haben sollte, wäre dies doch kein Grund, mir die Entdeckung desselben abzusprechen, sobald ich denselben genau abgebildet und durch eingehende anatomische und vergleichende Untersuchungen als den ausschließlichen Parasiten der Krankheit festgestellt hatte.

Ebensowenig glaube ich, daß meine Behauptung, daß es sich um eine Zwischenstellung des Parasiten zwischen Bakterien und Protozoen handle „oder die tiefste Stufe der Protozoen einnehmend sich den Bakterien nähert“, derart unwissenschaftlich wäre, daß man berechtigt wäre, auf Grund derselben mir die Entdeckung des Parasiten abzusprechen. Es ist ja auch von anderen Forschern wohl mit Recht behauptet worden, daß die Ansicht, daß die Bakterien als Pflanzen anzusehen wären, in dieser absoluten Form nicht haltbar ist, indem die Bakterien einesteils Charaktere besitzen, welche weder den Pflanzen noch den Tieren zukommen, und ihnen andere fehlen, welche als Charaktere dieser höheren Lebewesen gelten, anderenteils aber, indem verschiedene Bakterien in gewissen Entwickelungsstadien Uebergänge zu verschiedenen höheren, teils pflanzlichen, teils tierischen Organismen bilden. Es widerspricht demnach prinzipiell nichts der Annahme, daß ein Mikrobe einen Uebergang zu den niedersten Protozoen bilden könne, wenn derselbe in einem gewissen Stadium seiner Entwickelung Bakterienform, deutliche Membran, eine den Bakterien analoge Empfindlichkeit gegen Farbstoffe, charakteristische Zweiteilung sowie die Möglichkeit, sich ausnahmsweise auf gewissen Kulturböden zu entwickeln, aufweist. Auch die von manchen Autoren beschriebene Geißel des Parasiten entspräche dieser Auffassung. Allerdings kommt dem Parasiten in gewissen Stadien seiner bisher sehr unvollkommen bekannten Entwickelung wohl eine geringe amöboide Bewegung zu, von welcher ich mich aber nicht mit Sicherheit überzeugen konnte. Die Anwesenheit von glänzenden Körperchen in den Parasiten hatte ich schon im Beginn beschrieben. Dieselben färben sich nach Romanowsky, doch ist dies noch kein Beweis

für ihre Protozoennatur, indem die gleichen Körperchen auch bei Bakterien vorkommen. Uebrigens entspricht es ja auch meiner Auffassung, daß der Parasit gewisse Charaktere der Protozoarien besitze.

2) Der gewichtigste Einwand gegen meine ersten Untersuchungen des Parasiten besteht darin, daß man mir vorwirft, behauptet zu haben, daß der Parasit auf künstlichen Nährböden zu wachsen vermag. Allerdings habe ich unter vielen Hunderten von Versuchen ausnahmsweise eine Vermehrung des Parasiten beobachten können, und wurde mittels solcher Kulturen oder mittels Blutes manchmal beim Kaninchen eine tödliche Krankheit hervorgerufen. In Betreff der Kulturen sage ich ausdrücklich (Internat. Kongreß. Berlin 1890): „Auf Nährböden überimpft, entstehen in der Regel keine Kulturen, bloß auf (hämoglobinhaltigem) Blutserum entstehen selten kaum sichtbare, schmale, matte Belege“, ferner „Natürlich kann ich mich nicht bei der sehr großen Menge von Kulturversuchen über die wenigen aufgegangenen Kulturen aussprechen“.

Nun hatte ich besonders betont, daß Kulturen namentlich manchmal auf Rinderblutserum aufgehen, ebenso wie auch Th. Smith und Lignières später behauptet haben, manchmal auf hämoglobinhaltigem Rinderblutserum oder Blut Kulturen erzielt zu haben. Jetzt bezweifeln aber viele Forscher auch diese letzteren Befunde ebenso wie die meinen, so daß dieselben logischerweise auch an die sonst vorzüglichen Untersuchungen letzterer Autoren dasselbe Maß anlegen sollten wie an meine ersten Untersuchungen. Dieselben wollen aber bloß meine Angaben als minderwertige gelten lassen.

3) Allerdings habe ich in meinen ersten Publikationen noch vermutet, die Krankheit auf Kaninchen übertragen zu können, ich habe mich aber stets vorsichtig ausgesprochen, indem ich betonte, daß ein Teil der Veränderungen beim Kaninchen anderen assoziierten Bakterien ihren Ursprung verdanke, es sich also um eine assoziierte Krankheit handeln könnte. Andere Autoren haben nun keine Versuche angestellt, um sich zu überzeugen, ob Kaninchen nicht in der Tat an Hämoglobinämie erkranken können, wenn dieselben mit einem Gemisch von Hämatokokken und gewissen anderen assoziierten Bakterien infiziert werden. Die Krankheit der Kaninchen besitzt einen eigentümlichen Charakter, und wäre es ja möglich, daß dieselbe dem Einflusse des in größerer Menge eingeführten heterogenen Blutes wenigstens zum Teil zugeschrieben werden könnte.

Diese Frage ist demnach noch nicht endgültig entschieden, und kann ich nicht zugeben, daß man den Wert meiner Entdeckung auf Grund letzterer Angaben zu vermindern sucht.

Auch die Uebertragbarkeit des Parasiten auf Rinder und die experimentelle Erzeugung der Krankeit sowie die Dauer des Inkubationsstadiums habe ich zuerst festgestellt, wie dies aus folgender Mitteilung an die Académie des sciences vom 5. Mai 1890 erhellt:

„Versuche an den Ochsen. Die an Rindern unternommenen Versuche waren überzeugend.

1) Zwei Ochsen, die mit dem Blute von an Hämoglobinurie verendeten Ochsen gefüttert wurden, bekamen nach 8 Tagen ein leichtes Fieber, das 2 Tage anhielt. Ein Ochse, dem man in die Jugularvene 1 g krankes Ochsenblut einspritzte, bekam nach 12 Tagen ein 3 Tage lang dauerndes Fieber, aber ohne Hämoglobinurie.

2) Indem die Hämatokokken im Nierenblute in großer Anzahl vorhanden sind, injizierten wir 6—15 g dieses Blutes in die Jugularvene eines Ochsen. Das Tier blieb

während der ersten 14 Tage gesund. Am 15. Tage zeigte dasselbe kontinuierliches Fieber von über 40°; es nahm keine Nahrung zu sich, blieb liegen und zeigte eine Steigerung der Empfindlichkeit in der Nierengegend und merkliche Schwäche der hinteren Glieder. Der rötlich-gelbe Harn ist hämoglobinhaltig. Am folgenden Tage sind die Symptome stärker ausgesprochen. Das Tier ist unfähig zu gehen, fällt zusammen, so oft es sich aufzurichten versucht, hat tonische Zuckungen, Trismus, genau so wie in der natürlichen Krankheit. Der in geringen Mengen abgesonderte Harn wird schwärzlich-rot, enthält viel Hämoglobine, Eiweiß, gelbes Pigment, aber keine roten Blutkörperchen und keine Cylinder. Die harten, schwärzlichen Fäkalmassen werden nur mühsam und mit Schmerzen entleert. Nach einer scheinbaren leichten, 24 Stunden andauernden Besserung erkrankt das Tier von neuem, weist jede Nahrung von sich, der Harn wird immer dunkler und verendet das Tier am 8. Krankheitstage, 22 Tage nach der Inokulation, mit vorangehenden Zuckungen. Bei der Autopsie fanden sich die klassischen Läsionen der Krankheit, hämorrhagisches Oedem in der Umgebung des Magens und der Nieren, hyperämische Schwellung der Milz und der Nieren, wobei letztere beinahe schwarz gefärbt sind. Auf der Schleimhaut des Labmagens bemerkt man Ekchymosen und kleine Erosionen, während jene der Darmschlingen eine mit Ekchymosen einhergehende Kongestion aufweist. Das Blut, insbesondere dasjenige aus der Niere, enthält große Mengen von Hämatokokken, die namentlich in den roten Blutkörperchen gelegen sind.

3) Zwei Ochsen wurden inokuliert, der eine mit 5 g krankem Ochsenblut, der andere mit derselben Blutdosis, die aber mit einer gleichen Menge Nierensaft vermischt war. Beide Tiere zeigen ein vorübergehendes Fieber 14 Tage nach der Inokulation.

4) Zwei Ochsen bekommen 10 g Blut von in der Konvalescenz befindlichen Ochsen; dieselben bekommen nur ein leichtes Fieber, der eine nach 8, der andere nach 14 Tagen.

5) In einer letzten Serie von 3 Ochsen, welche aus unverseuchter Gegend stammen, bekam der eine 10 g krankes Ochsenblut, die beiden anderen dieselbe Menge vermischt mit derselben Menge Nierensaft. Das erste der Tiere und das eine von den beiden anderen zeigen 13 Tage nach der Inokulation das klassische Krankheitsbild: Fieber bis zu 41°, Anorexie, äußerste Schwäche, nervöse Symptome und charakteristische Hämoglobinurie (Parasiten im Blute). Der mit Nierensaft geimpfte Ochse erholt sich 6 Tage nach dem Krankheitsbeginn, während der andere 7 Tage nach der scheinbaren Besserung verendet (charakteristische Befunde). Das eine der beiden mit Nierensaft inokulierten Tiere, das 2 Tage nach der Inokulation schwer erkrankt ist, mit Schwäche, Verlust der Eßlust und mit Fieber, aber ohne Hämoglobinurie, erholt sich am 3. Tage und gesundet.

Ein anderer Ochse, der mit der gleichen Menge von einem an experimenteller Hämoglobinurie verendeten Ochsen herrührenden Nierensaft inokuliert war, erkrankt am 12. Tage mit leichtem Fieber, wird aber wieder gesund.

Diese Versuche beweisen, daß das unter die Haut, in die Venen oder in den Verdauungskanal eingebrachte Virus (Kulturen des Blutes der kranken Tiere) bei Kaninchen eine spezielle experimentelle Krankheit erzeugt und bei den Ochsen die klassische Hämoglobinurie hervorbringt. Um dieses Resultat zu erreichen, genügt es, eine ausreichende Dosis von Blut oder Nierensaft in die Venen oder in das tiefer gelegene Bindegewebe einzuspritzen. Bei dem Ochsen erscheint die Krankheit häufiger 15 Tage nach der Inokulation, dauert 6—8 Tage, heilt am 5. oder 6. Tage oder endet etwa am 8. Tage nach einer scheinbaren Besserung mit dem Tode, ebenso wie dies bei der von selbst entstandenen Hämoglobinurie beobachtet wird."

Diese meine Versuche und Resultate scheinen nun merkwürdigerweise allen späteren Autoren entgangen zu sein.

Was die Benennung des Parasiten betrifft, so erscheint mir sowie anderen Autoren die von Th. Smith gewählte Benennung Pyrosoma nicht passend, da derselben andere Bedeutung zukommt, als jene des Parasiten, aber auch die von Patton gewählte Bezeichnung Pyroplasma scheint mir nicht ganz zutreffend zu sein, indem es fraglich ist, ob dem Parasiten in der Tat die Bezeichnung „Plasma" zukommt, da die plasmatischen Erscheinungen bei unserem Parasiten kaum ausgesprochen erscheinen. Ebenso könnte man sich auch fragen, ob es zweckmäßig ist, den Parasiten nach seiner Erscheinungsweise in Birnen- oder Weidenblattform zu benennen, indem diese Form bloß in einer Krankheitsform und bloß in einem Stadium der Entwickelung des Para-

siten, besonders im kreisenden Blute beobachtet wird. Jedenfalls haben die Benennungen des Parasiten nur ganz sekundäre Bedeutung, und finde ich, daß meine Benennungen „seuchenhafte Hämoglobinurie des Rindes“ sowie „Haematococcus bovis“ kaum weniger berechtigt erscheinen, indem allerdings die Bezeichnung „Coccus“ hier bloß die Form, nicht aber die Stellung des Parasiten bezeichnen soll, weil letztere einstweilen nicht genauer bestimmt werden kann.

Keinesfalls ist man aber berechtigt, wie dies Lignières will, den Parasiten mit dem Malariaparasiten zusammenzuwerfen, bloß auf Grund des Umstandes hin, daß die Krankheit in sumpfigen Gegenden vorkommt.

Da müßte man auch z. B. den Dysenteriebacillus, welcher besonders in sumpfigen Gegenden Endemieen verursacht, als Malariaparasiten ansprechen. Bisher aber wurde nichts anderes an dem Parasiten wahrgenommen, was uns dazu berechtigen würde, denselben den Malariaparasiten einzuverleiben. Demselben muß eine Sonderstellung im Systeme gewahrt bleiben, und wird vielleicht das Studium desselben im Inneren der Zecken hierüber weitere Aufklärung bringen.

Einstweilen war es mir nicht gelungen, in den infizierten Zecken andere Veränderungen an dem Parasiten wahrzunehmen als eine Quellung und hyaline Umwandlung, welche vielleicht als Kapselbildung zu deuten ist.

Was diese Parasiten in anderen Krankheiten betrifft, so ist es wohl ganz sicher, daß ich dieselben zuerst bei Schafen in der in Rumänien als „Càrceag“ bezeichneten verheerenden Schafseuche beschrieben und als die Ursache der Krankheit erkannt hatte (Acad. d. sciences. 22. August 1892). In dieser Mitteilung habe ich weder von „Bakterien“, noch von gelungenen Kulturen, noch von gelungenen Uebertragungen auf Tiere berichtet, und sind alle meine Angaben über die Schafkrankheit und deren Parasiten ohne Einwand geblieben. Dennoch mangelte es nicht an Versuchen, mir auch diese Entdeckung zu schmälern, was aber wohl als gescheitert bezeichnet werden kann.

Daß diese letzteren nicht ganz unparteiisch sind oder auf oberflächlichen Litteraturstudien beruhen, zeigen z. B. die Mitteilung Bonomes (Virchows Archiv. 4. Juni 1895), welche von mir in demselben Archiv (Bd. CXXXIX. 1895) kategorisch zurückgewiesen wurde, sowie die Angaben Laverans, Nicolles (Bakteriologie. 1902) und Bessons (Bakteriologie. 1902), welche meine Mitteilung an die Akademie entweder nicht kannten oder, wie Nicolle, die Entdeckung Herrn Starcovici zuschreiben, welch letzterer einfach die Priorität meiner Entdeckung verteidigt und für den Parasiten den Namen „Babesia bovis“, resp. „Babesia ovis“ vorschlägt (l. c.).

Die Feststellung des Parasiten bei Hunden und bei Einhufern erfolgte dann von anderer Seite, ebenso wie ich gerne anerkenne, daß anderen, wie Th. Smith, R. Koch, Lignières, Kossel etc., um die Erforschung der Krankheit, namentlich um die Epidemiologie, Verhütung und Behandlung derselben ein weit größeres Verdienst zukommt, als meinen Mitteilungen, indem ich in der Tat über die Umstände des Auftretens und der Verbreitung der Krankheit noch im Unklaren war. Allerdings muß ich aber daran festhalten, daß die von mir konstatierten Momente tatsächlich bestehen (die Bedeutung der Brunnen, die Ansteckung der Zugochsen und der Nachbartiere, der Einfluß der Ueberarbeitung und gewisser Saisonen, die Empfänglichkeit des importierten

Viehes etc.), und werden dieselben eben mit der Verbreitung durch unsere Zecken (*Ixodes reduvius*?) in Einklang zu bringen sein.

---

Diese Bemerkungen haben demnach keineswegs den Zweck, den Wert der Untersuchungen anderer Autoren in der Erforschung der seuchenhaften Hämoglobinurie zu schmälern, im Gegenteil erkenne ich vor allem rückhaltslos das große Verdienst Th. Smiths in der Erforschung der Krankheit an. In der Tat verdanken wir es diesem ausgezeichneten Forscher, die Art der Uebertragung durch Zecken experimentell festgestellt zu haben. Was aber die weiteren Angaben desselben über Formen, namentlich über die chronische Form der Krankheit, über die Parasiten selbst betrifft, so finden wir manches, was nicht ohne weiteres acceptiert oder verallgemeinert werden kann. Es soll dies durchaus kein Vorwurf sein, sondern es beweist dies nur, daß die Erforschung dieser Krankheit besondere Schwierigkeiten bietet, und daß wir im Fortschreiten auf diesem dunklen Gebiete manchen Irrungen ausgesetzt sind. Ueberhaupt kenne ich keine Entdeckung auf unserem Gebiete, welche fertig und vollkommen das Licht der Welt erblickt hätte, und wohl jeder bedeutendere Bakteriologe, auch der gewissenhafteste, war zeitweise Täuschungen unterworfen. Es ist deshalb kaum gerechtfertigt, wenn sich manche Forscher berechtigt glauben, zu dekretieren, daß ich zwar den Parasiten der Krankheit zuerst gesehen und beschrieben, demonstriert, abgebildet und photographiert, die betreffende Epidemiologie und die Krankheit selbst genau studiert hätte, daß ich zwar die noch jetzt gültige Methode zur Darstellung des Parasiten zuerst angegeben habe, daß ich zwar zuerst die Krankheit experimentell auf Rinder übertragen und die Inkubationsdauer derselben bestimmt habe, nachdem ich aber in meinen Beschreibungen manche Befunde falsch interpretiert hätte, sei ich zur Strafe hierfür zum Verluste meiner Entdeckung des Parasiten der Krankheit zu verurteilen.

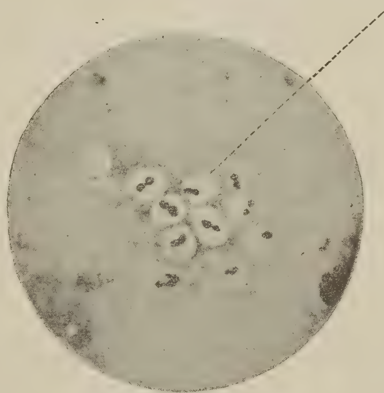


Fig. 3. Photographie des Parasiten aus unserem Bakterienwerke Cornil-Babes vom Mai 1890. Methylviolett. Vergr. 800. Die Parasiten im Inneren der roten Blutkörperchen in der Niere.

Gegen ein solches Urteil muß ich um so energischer protestieren, als die oben erwähnten tatsächlichen Befunde in ihrem vollen Umfange von zahlreichen Nachuntersuchern bestätigt wurden und dieselben den strikten Beweis erbringen, daß die Krankheit durch den von mir entdeckten Parasiten hervorgebracht wird, während die fraglichen oder angezweifelten Punkte, ob dem Parasiten in der Tat eine Stellung an der Grenze der Bakterien zu den Protozoaren oder an der Grenze

zwischen den Protozoaren und den Bakterien zukomme, ob derselbe ausnahmsweise kultiviert werden könne, ob Kaninchen in der Tat nach Injektion größerer Mengen des Blutes der kranken Tiere oder von Kulturen eine experimentelle Erkrankung aufweisen können, und was die Ursache dieser Krankheit sei, doch nur eine ganz sekundäre Bedeutung zukommt, welche das Verdienst der Entdeckung und die Beweiskraft obiger Befunde in nichts erschüttern.

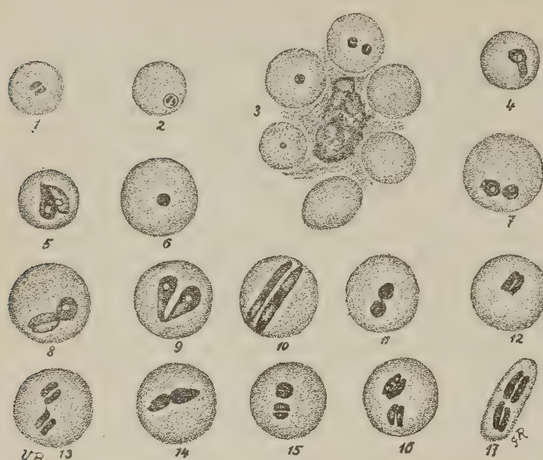


Fig. 4. Vergleichende Darstellung der Rinder- und Schafparasiten aus einer These über Càrceag aus dem Jahre 1892. Färbung mit Methylviolett und Methylenblau. Vergr. über 1000. *1, 2, 4, 5* die Parasiten im Càrceag der Schafe in den roten Blutkörperchen sitzend, *3* große Pulpazelle aus der Milz des Schafes mit roten Blutkörperchen, verschiedene Entwickelungsstadien des Parasiten zeigend, *6—11* der Parasit des Rindes in verschiedenen Entwickelungsstadien. Besonders interessant die große Stäbchenform mit Vierteilung, aus welcher gekrümmte, glänzende Körner enthaltende Formen entstehen, *10, 16, 17.* (Siehe noch die zahlreichen farbigen Abbildungen des Parasiten und der feinen Veränderungen in Virch. Archiv. Januar 1889.)

Allerdings haben die neueren Autoren über diesen Gegenstand die Frage über meine Priorität hauptsächlich auf Grund ungenügender Kenntnis und Wiedergabe meiner Befunde besprochen, und zweifle ich nicht, daß die gegenwärtige Mitteilung diese hochgeschätzten Forscher sowie jeden unbefangenen Leser von der Berechtigung meines Anspruches überzeugen wird, den Parasiten der seuchenhaften Hämoglobinurie des Rindes und des Schafes (des Texasfiebers, Tristeza, Malaria bovina sowie der analogen Schafkrankheit „Càrceag“, Iktero-Hämaturie der Schafe etc.) entdeckt zu haben.

---



# Zur Frage des Ueberganges der Typhusagglutinine von der Mutter auf den Fötus.

## Experimentelle Untersuchungen an Meerschweinchen.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Zürich.]

Vorläufige Mitteilung.

Von **C. Stäubli,** cand. med., Zürich.

In der Litteratur sind verschiedene Mitteilungen über die Vererbung resp. den Uebergang der Agglutinine vom mütterlichen auf den fötalen Organismus zu finden. Da aber die betreffenden Veröffentlichungen

teils nur auf vereinzelte Befunde sich beziehen, teils sich widersprechen, machte ich diese Frage auf Anregung von Herrn Privatdozent Dr. Silberschmidt hin zum Gegenstande genauerer experimenteller Untersuchungen. Seit längerer Zeit damit beschäftigt, werde ich durch eine Veröffentlichung von W. Jurewitsch in diesem Centralblatte (Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1902. No. 1) veranlaßt, vor endgiltigem Abschlusse meiner Arbeit schon jetzt die bis dahin gewonnenen Resultate mitzuteilen, und dies um so mehr, als meine Befunde mit den von jenem Autor veröffentlichten nicht in allen Punkten übereinstimmen.

Im ganzen kamen bis jetzt 32 Föten, von 15 Würfen herrührend, zur Untersuchung. Davon stammten 25 Junge von 12 aktiv immunisierten Muttertieren. Zu sämtlichen Injektionen, die bei den einzelnen Tieren in kürzeren oder längeren Intervallen wiederholt wurden, dienten durch Hitze abgetötete Kulturen ein und desselben Typhusstammes. Die Befunde obiger 12 Würfe waren folgende:

Gleicher oder annähernd übereinstimmender Gehalt an Agglutininen im mütterlichen und fötalen Serum konnte bei 6 Würfen konstatiert werden. Hiervon trat die Geburt bei 1 Wurf 6 Monate, bei 2 Würfen 5 Monate, bei 1 Wurf 2 Monate, bei 2 Würfen 1 Monat nach der ersten Injektion ein. In 2 Fällen verhielt sich der Agglutinationswert des fötalen zu demjenigen des mütterlichen Serums wie 1 : 4, von denen der eine Wurf 5 Wochen, der andere 3 Wochen nach der ersten Injektion stattfand. Das Verhältnis von 1 : 8 und dasjenige von 1 : 20 zeigte sich in je einem Falle nach 3-wöchentlicher Behandlungsdauer. Nur $^{1}/_{40}$ des mütterlichen Agglutinationswertes wies 1 Junges auf, dessen Mutter 14 Tage vor der Geburt die erste Injektion erhalten hatte. Gar keine Agglutination fand sich in einem Falle, wo die Geburt des betreffenden Fötus 8 Tage nach Beginn der Behandlung der Mutter statthatte. Letztere besaß aber selbst nur den Wert von 1 : 50. Sonst bewegte sich die Agglutinationskraft des mütterlichen Serums zwischen den Werten von 1 : 400 und 1 : 16000. Bei allen Jungen ein und desselben Wurfes war ungefähr dieselbe Agglutinationskraft des Serums vorhanden.

Eine weitere Frage, die geprüft wurde, war die, ob die das Agglutinationsphänomen bedingenden injizierten Substanzen als solche in den fötalen Kreislauf übergehen und im embryonalen Organismus selbständig Agglutinine gebildet würden oder ob die agglutinierenden Substanzen des fötalen Serums allein von der Mutter herstammten. Um dies zu entscheiden, wurden die lebensfähigen Jungen solcher Muttertiere, die wenige Tage vor der Geburt noch Bakterieninjektionen erhalten hatten, in den folgenden Tagen weiter untersucht. In den betreffenden, immerhin wenigen, Fällen konnte ein Ansteigen der Agglutinationskraft des Serums der Jungen nicht nachgewiesen werden.

Um die Frage, ob es sich bei der Vererbung der Agglutinine um einen rein passiven Uebergang durch die Placenta handle, weiter aufzuklären, injizierte ich bis jetzt drei trächtigen Tieren hochwertiges Serum anderer Meerschweinchen, d. h. es wurden den betreffenden Tieren fertig gebildete Agglutinine einverleibt. Es ergaben sich dabei folgende Resultate:

5 Junge von 2 Muttertieren besaßen je die Hälfte des Agglutinationswertes der Mutter, dabei hatte die eine Geburt $3^{1}/_{2}$ Monate, die andere 6 Tage nach Beginn der Injektionen stattgehabt. In einem

3. Falle, wo 2 Junge ca. 40 Stunden nach der ersten Behandlung geworfen worden waren, zeigte die Mutter den Wert von 1 : 1600, die beiden Jungen je 1 : 25. Nach letzterem Falle zu schließen, scheinen die Agglutinine nur sehr langsam in den fötalen Kreislauf überzugehen.

Diese 3 Versuche mit passiver Einverleibung fertiger Agglutinine hatte noch einen anderen Zweck. Es hatte sich bei meinen Untersuchungen über die Ausscheidung der Typhusagglutinine (siehe Centralbl. No. 5: Exper. Unters. über die Ausscheid. der Typh.-Agglut.) ergeben, daß die Milch von Typhusimmuntieren einen relativ hohen Agglutinationswert aufweist, der in manchen Fällen kurz nach der Geburt denjenigen des Serums sogar bei weitem übersteigen kann. Diese Beobachtung regt zu der Frage an, ob den sezernierenden Drüsenzellen nicht eine aktive Rolle in der Bildung der Agglutinine zuzuschreiben sei, wobei der Zerfall zelliger Elemente mit von Bedeutung wäre, oder ob es sich bei der Milchdrüse nur um die Ausscheidung der durch das Blut ihr zugeführten Agglutinine handle. In letzterem Falle dürften die vereinzelten Befunde, bei denen die Agglutinationskraft der Milch diejenige des Serums überstieg, durch eine Art Konzentrierung erklärt werden, indem bei noch nicht eingetretener Säugung durch die Sekretstauung im Drüsenlumen das Wasser durch die Gewebe wegfiltrieren würde. Tatsächlich fiel auch bei einigen der diesbezüglichen Untersuchungen eine gewisse Dickflüssigkeit des Sekretes auf. Ich suchte nun dieser Frage dadurch näherzutreten, indem ich trächtigen Tieren fertige Agglutinine einverleibte, von der Ueberlegung ausgehend, daß auch unter diesen Umständen die Agglutinine ungefähr in demselben Mengenverhältnis in der Milch zu erwarten wären, falls es sich bei der Milchdrüse nur um die Ausscheidung der mit dem Blute in sie gelangenden fertig gebildeten Agglutinine handelte. Die Ergebnisse waren überraschende:

| Tier | 1. Injektion | Letzte Injektion | Geburt | Wert des Ser. | Wert d. Milch |
|---|---|---|---|---|---|
| a. | 12. Juli 1902 | 29. Oktober | 30. Oktober | 1 : 400 | 1 : 10 |
| b. | 6. Novemb. 1902 | 12. November | 17. November | 1 : 400 | 1 : 25 |
| c. | 6. Januar 1903 | 7. Januar | 7.—8. Januar | 1 : 1600 | 1 : 100 |

Im Vergleich mit den an anderer Stelle mitgeteilten Befunden bei aktiv immunisierten Tieren sind hier die verhältnismäßig geringen Werte der Milch auffällig. Immerhin rechtfertigen 3 einzelne Beobachtungen bei biologischen Vorgängen, wo so viele nicht übersehbare Nebenfaktoren bestimmend mitwirken können, noch keinen definitiven Schluß.

Als feststehend darf indes nach dem Mitgeteilten betrachtet werden:

1) Sowohl die aktiv als auch die passiv erworbenen Agglutinine gehen von der Mutter auf den Fötus über; die aktiven, wenn der Beginn der Injektionen mindestens 14 Tage von der Geburt zurückliegt.

2) Der Agglutinationswert des fötalen Serums nähert sich um so mehr dem des mütterlichen Serums resp. kommt ihm gleich, je mehr 1. Injektion und Wurf zeitlich getrennt sind.

3) Die Jungen ein und desselben Wurfes zeigen ungefähr den gleichen Serumgehalt an Agglutininen.

Die Einzelheiten wie die weiteren Resultate sollen nach Abschluß meiner Untersuchungen in einer zusammenfassenden Arbeit mitgeteilt werden. Doch wird es mir jetzt schon zur angenehmen Pflicht, Herrn

Prof. Dr. O. Wyss für die gütige Ueberlassung des gesamten Materials, sowie Herrn Privatdozenten Dr. Silberschmidt für die Anregung zu dieser Arbeit und für seinen stets bereitwilligst erteilten Rat meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Zürich, 10. Januar 1903.

---

*Nachdruck verboten.*

# Wasseruntersuchung und Typhusbacillus.

Von Prof. **H. Bonhoff**, Marburg a. L.

In dem Dorfe Caldern, das einige Stunden oberhalb Marburgs im oberen Lahntale am rechten Ufer der Lahn gelegen ist, sind seit mehreren Jahren fast regelmäßig in den Sommermonaten Typhusfälle beobachtet worden, die von den Bewohnern selbst und den Behörden mit dem Genusse bestimmten Brunnenwassers in ursächliche Verbindung gebracht worden sind. Die Daten, die mir über diese Erkrankungen seitens des behandelnden Arztes, Herrn Kollegen v. Heusinger, gütigst zur Verfügung gestellt worden sind, lauten folgendermaßen:

Im Jahre 1899 sind im ganzen beobachtet worden 7 Fälle, von denen der erste am 19. Juli zur Behandlung kam, der letzte am 30. Oktober. Das Jahr darauf scheinen gar keine Typhusfälle vorgekommen zu sein. Aus dem Jahre 1901 wird nur über einen Fall berichtet, der schon am 20. Januar dieses Jahres ärztliche Hilfe in Anspruch nahm und Ende Februar mit Genesung endigte. Im laufenden Jahre kam der erste Fall wieder im Hochsommer, am 16. Juli des Jahres in ärztliche Behandlung. Im ganzen sind in dem Jahre 1902 4 Fälle zur Beobachtung gekommen.

Alle diese Erkrankungen werden von Behörden und Aerzten sowie von der Bevölkerung selbst in Verbindung gebracht mit dem Genusse des Wassers eines bestimmten Brunnens, der, in der Nähe der Wohnung des erstgenannten Falles gelegen, schon verschiedentlich Verbesserungen unterworfen und in diesem Jahre ganz geschlossen worden ist. Es handelt sich um einen richtigen Kesselbrunnen, dessen Mauern vor einiger Zeit neu mit Cement gedichtet worden sind, der aber bereits im Sommer 1902 wieder so weit undicht in seiner seitlichen Wandung geworden war, daß die oberen Teile der seitlichen Begrenzung aus lose, ohne jedes Bindemittel aufeinanderliegenden Steinen bestanden.

Auf Veranlassung des Kreisarztes wurde in meiner Abteilung in diesem Sommer nach Meldung der ersten Typhusfälle, die wieder mit dem Genusse des Wassers dieses Brunnens in Verbindung stehen sollten, eine bakteriologische Untersuchung des Wassers vorgenommen. Die Untersuchung fand statt 3 Wochen nach dem Ausbruch der Erkrankungen. Mehrere Proben des Wassers von beträchtlichem Volum wurden an Ort und Stelle in 1-proz. Peptonwasser mit Kochsalzzusatz verwandelt, ferner an Ort und Stelle mit kleineren Mengen des Wassers Platten gegossen. Die Peptonwasserkolben, im Brutschrank bei 37° ge-

halten, wurden nach 24, 48, 72 und 96 Stunden mit Gelatine- und Agarplatten auf Typhusbacillen untersucht. Es war nicht möglich, auf einer dieser Platten Typhusbacillen nachzuweisen. Sämtliche von den Platten abgeimpfte verdächtige Kolonieen brachten in Traubenzuckeragar Gärung hervor.

Da auch ich bei genauerer Ueberlegung der Verhältnisse, hauptsächlich neben dem schon Erwähnten noch wegen der Lage des Brunnens, die Ueberzeugung gewonnen hatte, daß das Wasser dieses Brunnens ausnahmsweise einmal mit Grund mit dem Auftreten der Typhuserkrankungen in Beziehung gesetzt sei, beschloß ich, nachdem die Untersuchung des Wassers selbst negativ ausgefallen war, noch einmal eine Prüfung des am Boden des Kessels abgelagerten Wassersediments, also eventuell des Schlammes vorzunehmen. Nach bekannten Untersuchungen Rubners geht von dem Bakteriengehalt des Wassers eines Kesselbrunnens dauernd ein Teil zu Boden und muß also in dem Sediment des Wassers noch eine Zeitlang lebensfähig bleiben. Es ließ sich annehmen, daß auch Typhusbacillen, die eventuell eine Zeitlang in dem Wasser in größerer Zahl vorhanden gewesen waren, nicht vollzählig wieder aus dem Wasser durch Abpumpen herausgebracht waren, sondern daß ein Teil derselben als Sediment zu Boden des Kessels gegangen war und sich hier unter den verhältnismäßig günstigen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen über eine gewisse Zeit lebensfähig erhalten hatte. Es schien daher nicht aussichtslos, die bisherige Wasseruntersuchung durch eine nochmalige Untersuchung des Bodensatzes des Kessels zu vervollständigen.

Diese sollte in der Weise vorgenommen werden, daß mit dem bekannten (sterilisierten) Fraenkelschen Bodenbohrer zunächst bis auf den fühlbaren Grund des Kessels gegangen wurde, dann soviel tiefer zu bohren versucht wurde, als der Entfernung der Höhlung des Bohrers von der Spitze desselben entspricht und jetzt durch Drehung des Bohrers in dem bisherigen entgegengesetzten Sinne die Oeffnung der Aushöhlung erzielt wurde etc. Der Inhalt des Ausschnittes sollte dann in sterile Erlenmeyersche Kölbchen, die mit 100 ccm 2-proz. Peptonwassers gefüllt waren, entleert, von dem Rest Gelatineplatten an Ort und Stelle gegossen werden, während die Kölbchen im Laboratorium bei 37° C gehalten werden sollten, um wie bei der Untersuchung des Wassers von Zeit zu Zeit mit Gelatineplatten auf Typhusbacillen durchforscht zu werden. Der Schlammproben sollten womöglich 5 an verschiedenen Stellen des kreisförmigen Umfanges der Bodenfläche und in der Mitte derselben entnommen werden; die Aushöhlung des Bohrers sollte nach jeder Benutzung durch absoluten Alkohol mehrmals ausgewaschen und durch Verbrennen des letzten Restes dieses Alkohols womöglich sterilisiert werden.

Bei Ankunft in Caldern zeigte sich, daß sich obiges Programm nicht werde durchführen lassen. Der Kessel war durch die Behörden zugemauert und auch der Deckel am Rande fest vermauert worden. So blieb nichts übrig, als durch eine in der Mitte des Deckels hergestellte Oeffnung nur eine einmalige Probe in der oben angegebenen Weise zu entnehmen und zu verarbeiten.

Bei der Untersuchung der von dieser Probe herrührenden Platten wurden nun eine Anzahl verdächtiger Kolonieen erhalten, die Traubenzuckeragar nicht vergärten. Der Nährboden blieb zusammenhängend, Gasblasen traten nicht auf und das Wachstum der als Bacillen sich

erweisenden Mikroben fand bis in die untersten Teile des Impfstichs statt. Es lohnte sich also der Mühe, diese Dinge genauer, zunächst auf biologischem Wege zu prüfen.

Von den verschiedenen einer genaueren Prüfung unterzogenen Mikroorganismen ist nur eine Art verdächtig geblieben, die ich im Folgenden kurz in ihren Haupteigenschaften beschreiben will. Die übrigen ließen sich schon durch ihre Form und ihr Wachstum auf einigen Nährböden, durch ihre Stoffwechselprodukte als nicht zum Typhusbacillus gehörig erkennen.

Es handelt sich um eine Stäbchenart, die in ihren Größenverhältnissen eine ziemliche Uebereinstimmung mit echten Typhusbacillen zeigt: häufig kleinere, zu zweien zusammenliegende Formen neben meist einzelnen, selten zu kurzen Scheinfäden auswachsenden größeren Stäbchen. Die Größe des Calderner Bacillus ist vielleicht meist eine um wenig größere als die der Stäbchen unserer Typhuskultur. Eigenbewegung ist nicht vorhanden bei im Brutschrank gewachsenen Kulturen. Mit dem Loefflerschen Geißelfärbungsverfahren lassen sich Eigenbewegungsorgane an den einzelnen bei 37 ⁰ gewachsenen Stäbchen nicht nachweisen. Während ich mit derselben schwach erwärmten Beize und bis zum Kochen allmählich erhitzten Anilinwasserfuchsinlösung bei frischen Typhuskulturen ausgezeichnete Geißelpräparate bekam, in denen an fast jedem einzelnen Typhusbacillus massenhaft Geißeln in dicken Strängen saßen, war an den aus dem Calderner Brunnen stammenden Stäbchen auch nicht einmal eine Andeutung, kein einziger Geißelstumpf, keine abgerissenen Geißeln zu erkennen. Eine daraufhin oft wiederholte Prüfung frischer Brutschrankkulturen dieses Calderner Bacillus hat mich überzeugt, daß, abgesehen von Flüssigkeitsströmungen, welche einmal einzelne der gezählten Stäbchen fortschwemmen können, nur eine lokal begrenzte Beweglichkeit übrig bleibt, die sich sehr deutlich durch Drehungen um die Querachse oder Längsachse äußert. Ganz anders wird das Bild des hängenden Tropfens und des mit Loefflerschem Verfahren hergestellten Geißelpräparats bei Kulturen, die bei Zimmertemperatur gehalten worden sind. Nach ca. 20 Stunden ist auf der Agaroberfläche bei solchen Kulturen mit bloßem Auge kaum etwas von Wachstum zu sehen, höchstens eine gewisse Abstumpfung des Glanzes der Oberfläche. Nimmt man etwas von dem Material weg, so zeigt sich im hängenden Tropfen lebhafte Eigenbewegung jedes einzelnen Stäbchens etwa in der Art, wie wir sie beim Typhusbacillus auch zu sehen gewohnt sind. Und die Geißelfärbung gibt sofort ohne Mühe Bilder, die niemand von einer Typhusbacillengeißelfärbung wird unterscheiden können: zahlreiche seitenständige Geißeln an einzeln liegenden Stäbchen, einen Wald von Geißelfäden um die in Haufen zusammengelagerten.

Die Eigentümlichkeit des Typhusbacillus, auf Kartoffelnährböden „Polkörner“ zu bilden, die sich stärker mit Anilinfarben tingieren als das übrige Protoplasma der Bakterienzelle, die ferner im hängenden Tropfen als stark lichtbrechende Gebilde hervortreten, besitzt auch der Calderner Bacillus in hervorragender Weise. Es ist, wenn man die beiden hängenden Tropfen oder gefärbten Präparate in 2 Mikroskopen nebeneinander liegen hat, nicht möglich, irgend einen Unterschied zu finden, zumal die Eigenbewegung des Typhusbacillus hier fortfällt und nicht zur Differenzierung dienen kann.

Die Gramsche Färbung ist negativ wie beim Bac. typhi.

Ueber die biologischen Eigenschaften des in Caldern erhaltenen Stäbchens kann ich mich kurz fassen; dieselben stimmen ausgezeichnet mit denen des Typhusbacillus überein. Es wird also die Gelatine nicht verflüssigt und typische Kolonieen mit Nabel und blattartiger Zeichnung auf ihr erzeugt; Traubenzucker wird nicht vergoren[1]), die Milch bleibt trotz lebhafter Vermehrung des Bacillus in dem Nährboden flüssig; in Peptonwasser ist auch nach mehrtägigem Aufenthalt im Brutschrank Indol nicht gebildet; auf Kartoffeln findet typisches Wachstum statt in den Nährboden hinein, nicht auf der Oberfläche. Die Säurebildung des Calderner Stäbchens ist weit geringer als die des Bact. coli commune, aber etwas höher als die unserer Typhusbacillusreinkultur. In Traubenzuckerbouillon hatte nach 24-stündigem Wachstum bei 37$^0$ das Bact. coli soviel Säure gebildet, daß 75 Tropfen $\frac{N}{100}$ Natronlauge bis zum Auftreten der Phenolphthaleïnrötung erforderlich waren; bei „Caldern“ wurden 55, bei Typhusreinkultur 50 Tropfen gebraucht. Nach 48-stündigem Wachstum waren die erforderlichen Laugenmengen bereits wesentlich geringer; Bact. coli gebrauchte 70, „Caldern“ 35, der Typhusbacillus 30 Tropfen derselben $\frac{N}{100}$ Natronlauge.

Traubenzuckeragarröhrchen, die mit Neutralrot versetzt sind, lassen in den ersten 24 Stunden ihres Aufenthalts im Brutschrank Abweichungen von dem Verhalten des Typhusbacillus auf dem gleichen Nährboden nicht erkennen. Vom 3. Tage an jedoch wird an der untersten Stelle des Impfstichs eine geringe gelbliche Fluorescenz sichtbar, die in den nächsten Tagen etwas nach oben fortschreitet, aber nur für eine kurze Strecke, etwa $^1/_2$ cm, und niemals in der bei Bact. coli bekannten Weise den größten Teil oder den ganzen Nährboden durchsetzt. Vom 6. Tage an etwa erfolgt Stillstand der Verfärbung, $^1/_2$ cm des untersten Teiles des Nährbodens in unmittelbarer Umgebung des Impfstichs ist dann charakteristisch verfärbt, der obere Teil unverändert.

Auf dem von Drigalski und Conradi beschriebenen, zur Differenzierung des Typhusbacillus vom Bact. coli dienenden Nährboden bildet „Caldern“ rote Kolonieen. Die Rotbildung tritt allerdings erst spät ein, etwa vom 3. Tage an deutlicher, und ist niemals so hervortretend, wie bei typischem Bact. coli commune.

Zur Anstellung des Agglutinationsversuches und des Pfeifferschen Versuches standen mir drei verschiedene Sera zur Verfügung. Einmal ein von mir selbst hergestelltes Ziegenserum, durch Immunisierung mit unserer Typhusbacillenreinkultur (subkutane Impfung lebender Kultur) erhalten. Zweitens ein von Herrn Prof. Kolle mir liebenswürdigerweise überlassenes Kaninchenserum, durch intravenöse Injektion von Kulturen erhalten, die bei ca. 60$^0$ abgetötet waren. Endlich ein von Pferden stammendes Typhusimmunserum von dem Schweizerischen Institut für Infektionskrankheiten in Bern.

---

1) Wie mir erst viel später angestellte Versuche mit ganz frisch bereitetem, viel Feuchtigkeit enthaltendem Traubenzuckeragar gezeigt haben, tritt in solchem weichen Nährboden deutlich Gasbildung ein. Ist der Agar nur 6 Tage alt, so kommt es nicht mehr dazu. Eine hierauf vorgenommene Prüfung im Gärkölbchen erwies eine geringe Gasbildung auch hier im geschlossenen Schenkel.

Die Ziege, welche das von mir selbst hergestellte Serum geliefert hatte, ist in meiner Abteilung seit 2 Jahren in Intervallen mit Typhusbacillen und zwar lebender 18-stündiger Kultur subkutan geimpft worden. Sie hatte vor etwa Jahresfrist eine ziemlich beträchtliche Immunität erreicht, da $^1/_{10}$ mg ihres Serums genügte, um Meerschweinchen bei intraperitonealer Impfung gegen die 2fach tödliche Dosis lebender Typhusbacillen zu schützen. Der Agglutinationstitre ist damals nicht genau festgestellt worden. Das Tier hat dann längere Zeit, um sich erholen zu können, ohne weitere Impfungen im Stalle gestanden und zeigte bei Wiederaufnahme der subkutanen Impfungen im Herbst vorigen Jahres eine derartige Verminderung der Resistenz gegen oder Erhöhung der Empfänglichkeit für Typhusbacillen, daß nach der Impfung auch nur relativ kleiner Mengen frischer Kultur (z. B. eines Agarröhrchens) sehr starke Oedeme am Bauche, große Hinfälligkeit, Verweigerung des Fressens während mehrerer Tage entstanden. Das oben erwähnte Blutserum war erhalten von einer Blutprobe, die 14 Tage nach der subkutanen Injektion zweier lebender Agarkulturen entnommen war. Das stark überempfindlich gewordene Tier ist später nicht weiter behandelt worden.

Der Agglutinationstitre des Serums gegenüber der zur Immunisierung der Ziege benutzten Typhusbacillenkultur betrug zu meinem Staunen nicht mehr als 1 : 100. Eine Verdünnung von 1 : 200 agglutinierte nicht mehr. Genau denselben Titre zeigte das Serum gegenüber dem Calderner Bacillus, während Bact. coli schon in einer Verdünnung des Serums von 1 : 20 nicht mehr agglutiniert wurde.

Vor der, wie sich zeigen wird, irrtümlichen Annahme, daß mit diesem Ausfall des Versuches die Identität des Calderner Bacillus mit dem Bac. typhi erwiesen sei, bewahrte mich das Ergebnis eines gleichzeitig mit demselben Serum angestellten Pfeifferschen Versuches. Es wird am einfachsten sein, denselben in Gestalt folgender Tabelle vorzuführen:

| Mdl. No. | Serum | Kultur | Ergebnis |
|---|---|---|---|
| 1 | Norm. Ziegenserum 0,1 ccm | Bac. typhi 2fache tödl. Dosis | bleibt leben |
| 2 | Norm. Ziegenserum 0,01 ccm | „ | † nach 18 Stdn. |
| 3 | Ziegen-Immunserum 0,1 ccm | „ | bleibt leben |
| 4 | Ziegen-Immunserum 0,01 ccm | „ | bleibt leben |
| 5 | Norm. Ziegenserum 0,1 ccm | Cald. Bac. 2fache tödl. Dosis | bleibt leben |
| 6 | Norm. Ziegenserum 0,01 ccm | „ | tot gef. nach 14 Stdn. |
| 7 | Ziegen-Immunserum 0,1 ccm | „ | † nach 40 Stdn. |
| 8 | Ziegen-Immunserum 0,01 ccm | „ | tot gef. nach 14 Stdn. |
| 9 | Ziegen-Immunserum 0,1 ccm | Bact. coli 2fache tödl. Dosis | bleibt leben |
| 10 | Ziegen-Immunserum 0,01 ccm | „ | † nach 20 Stdn. |

Wie die Kulturen aus den Bauchhöhlen der eingegangenen Tiere auswiesen, sind sie sämtlich an den ihnen eingeimpften Bakterienarten zu Grunde gegangen.

Eine Auflösung der verimpften Bakterien in der Bauchhöhle der Meerschweinchen ließ sich nur nachweisen bei den beiden Tieren 3 u. 4, und zwar sehr deutlich schon 20 Minuten nach der Impfung.

Bei allen übrigen Tieren zeigte der nach 20 und 60 Minuten der

Bauchhöhle entnommene Tropfen keine Spur der bekannten Veränderung die Bakterien waren in großen Mengen und völlig unverändert bei allen vorhanden, auch bei den Tieren 1, 5 und 9, die der Infektion nicht erlegen sind.

Das Typhus-Immunserum meiner Ziege hat also selbst in einer Dosis von 0,1 ccm den Tod der mit dem Calderner Bacillus geimpften Tiere nicht aufhalten können, während das mit 0,1 ccm normalen Ziegenserums beimpfte Tier 5 am Leben blieb und außerdem 0,1 ccm des Serums der immunisierten Ziege gegen die Infektion mit Bact. coli schützte. Wenn der Calderner Bacillus mit dem Eberthschen identisch gewesen wäre, hätten Tier 7 und 8 am Leben bleiben und bei der Peritonealflüssigkeit deutliche Granula zeigen müssen.

Der Ausfall dieses Versuches ließ mich wünschen, daß es möglich sein möchte, andere, und zwar möglichst hochwertige Sera von typhusimmunen Tieren zum Vergleich heranzuziehen. Wie schon erwähnt, erhielt ich deren zwei, zugleich mit den Kulturen, die zur Immunisierung der blutliefernden Tiere gedient hatten und sich biologisch als echte Typhusbacillen erwiesen. Auch mit diesen beiden Sera wurde der Agglutinationstitre festgestellt und der Pfeiffersche Versuch unternommen. Es soll zunächst das Resultat der Agglutinationsversuche in der nächsten Tabelle mitgeteilt werden.

| Serum | Kultur | Ergebnis positiv | Ergebnis negativ |
|---|---|---|---|
| Prof. Kolle | Typhusbacillus Berlin | 1:3000 | 1:4000 |
| „ | Typhusbacillus Marburg | 1:200 | 1:2000 |
| „ | Typhusbacillus Bern | 1:200 | 1:2000 |
| „ | Calderner Bacillus | 1:20 | 1:40 |
| „ | Bact. coli | 1:10 | 1:20 |
| Bern, Inst. f. Inf.-Kr. | Typhusbacillus Bern | 1:2000 | 1:3000 |
| „ | Typhusbacillus Marburg | 1:200 | 1:2000 |
| „ | Typhusbacillus Berlin | 1:200 | 1:2000 |
| „ | Calderner Bacillus | 1:10 | 1:20 |
| „ | Bact. coli commune | 1:10 | 1:20 |

Wie ersichtlich, sind die Grenzwerte für die einzelnen Bakterienarten gegenüber den beiden Sera zum Teil nur sehr wenig genau bestimmt; es ist z. B. sehr wahrscheinlich, daß der Titre beider Sera für die beiden externen Typhusbacillenarten weit höher liegt als 1:200. Für den vorliegenden Zweck genügte die vorgenommene Festsetzung vollkommen. Es geht aus der Tabelle mit Sicherheit hervor, daß der Calderner Bacillus den betreffenden Seris wesentlich ferner steht, als echte Typhusbacillen.

In Bezug auf den Ausfall des Pfeifferschen Versuches, der mit beiden Seris in ähnlicher Weise, wie oben für mein Ziegenserum gezeigt ist, angestellt wurde, kann ich mich kurz fassen: Die beiden Sera waren nicht imstande, in entsprechenden Dosen die Versuchstiere, welche mit dem Calderner Bacillus geimpft waren, vor dem Tode zu schützen und die bei den Kontrolltieren vorhandene Granulabildung blieb völlig aus.

Aus dem Mitgeteilten ergiebt sich, daß der Calderner Bacillus jedenfalls kein echter Typhusbacillus ist, trotz der immerhin großen Uebereinstimmung in den morphologischen und biologischen Eigen-

schaften. Es wäre vielleicht angebracht, zu überlegen, ob es sich etwa um Paratyphusbacillen handeln könnte. Da mir indessen weder Kulturen eines solchen Bacillus, noch das Serum gegen denselben immunisierter Tiere zur Verfügung stehen, muß ich mich auf die Andeutung dieser Möglichkeit beschänken.

Die Möglichkeit, daß es sich um einen Typhusbacillus handelte, der durch den Aufenthalt im Wasser seine Agglutinationsfähigkeit für kurze Zeit eingebüßt habe — eine Anschauung, die neuerdings von seiten französischer Autoren vielfach ausgesprochen worden ist — scheint mir in unserem Falle schon deshalb ausgeschlossen, weil die Agglutinationsversuche mit Kulturen vorgenommen sind, die etwa die 25. Generation seit Gewinnung der Reinkultur darstellten.

Es soll auch an dieser Stelle nicht der für manchen vielleicht reizvolle Versuch gemacht werden, zn erklären, in welcher Weise der vormals echte Typhusbacillus in dem Schlamme des Calderner Brunnens einen Teil seiner Eigenschaften eingebüßt hat, um schließlich dasjenige zu werden, als was er sich heute darstellt. Solche Gedankengänge halte ich für müßige Spielereien. Was wir von der Veränderlichkeit in den Eigenschaften der Bakterien wissen, zeigt lediglich an, daß dieselben in hervorragender Weise geeignet sind, ihre Charaktere gegenüber den verschiedensten „modifizierenden Einflüssen“ recht fest zu halten. Ob es sich bei dem Calderner Bacillus um eine Abart des Bact. coli handelt, darüber könnte nur eine Untersuchung mit spezifischem Serum, das mir nicht zur Verfügung steht, vielleicht einigen Aufschluß geben. Ich muß also von einer genaueren Bestimmung und Rubrifizierung des gefundenen Mikroorganismus Abstand nehmen und tue dies um so leichter, als die Beschreibung desselben keineswegs den Hauptzweck der vorliegenden Zeilen bildet.

Vielmehr liegt mir daran, zwei Punkte mit der nötigen Betonung hervorzuheben. Erstens dasjenige, was ich schon oben über die Notwendigkeit der Untersuchung des Brunnenschlammes gesagt habe. Wenn es auch in meinem Untersuchungsfalle nicht gelungen ist, echte Typhusbacillen zu finden, so spricht das nach meiner Meinung durchaus nicht gegen den Wert meines Vorschlags. Es kommt natürlich darauf an, auch diese Untersuchung innerhalb eines nicht zu langen Zeitraumes nach dem Auftreten der Erkrankung vorzunehmen. Aber mir scheint, daß nicht nur der Zeitraum nach Auftreten der Erkrankungen, in dem man die Schlammuntersuchung mit Aussicht auf Erfolg ausüben kann, ein längerer sein wird als bei der Wasseruntersuchung, sondern daß auch die Chancen, den vorhandenen Erreger zu erhalten, weit größere sein werden als bei der Wasseruntersuchung. Unter den zu Boden gesunkenen Mikroben werden verhältnismäßig viel weniger vorhanden sein, die die Konkurrenz mit den Typhusbacillen bei Bruttemperatur aufnehmen können, da es sich eben um mehr weniger geschädigte, nicht mehr voll lebensfähige Mikroorganismen handelt, die außerdem, soweit sie noch vermehrungsfähig sind, meist an niedrige Temperaturen gebunden sind. In dem Wasser selbst wird dagegen die Lebensfrische der vorhandenen Bakterien eine größere sein und es werden unter denselben oft genug vielleicht eben ins Wasser gelangte, auch bei höherer Temperatur gut gedeihende Arten sich finden.

Natürlich müßte man die Methodik der Schlammuntersuchung in

etwas besserer Weise ausbilden, als das bisher geschehen ist. Der Fraenkelsche Bodenbohrer ist jedenfalls in den meisten Fällen nicht das geeignete Instrument, vor allem dann nicht, wenn es sich bei dem Boden des Brunnens um Fels oder sonstigen festen Untergrund handelt. Ich glaube auch nicht, daß der von Davids vor Jahren in der Hygienischen Rundschau angegebene Bohrer für unseren Zweck wesentlich bessere Ergebnisse liefern würde. Aber es würde für jeden geschickten Mechaniker ein leichtes sein, ein Instrument zu konstruieren, das zum Abkratzen des Schlammes eines Brunnens dienen könnte: ein liegender, also horizontal an einer senkrechten Stange befestigter geschlossener Hohlcylinder, der, sobald der Untergrund gegen zwei starke Hervorragungen drückt, die an dem Cylinder nach unten angebracht sind, etwas auseinandergeht in seiner unteren Längslinie und den beiden frei werdenden scharfen Rändern gestattet, von dem Schlamme genügende Teile abzukratzen; Schluß des Cylinders, sobald der Druck nachläßt! Oder etwas Aehnliches.

Die Hauptsache wäre freilich, daß auch solche Untersuchungen rechtzeitig, d. h. nach möglichst kurzem Intervall seit dem Ausbruch der Krankheit vorgenommen würden. Und damit komme ich zu dem zweiten Punkt, um den es mir, wie oben angedeutet, mit dieser Veröffentlichung hauptsächlich zu tun ist. In zahlreichen Schriften, Lehrbüchern, Kompendien, Aufsätzen, ist die Tatsache immer wieder niedergelegt worden, daß es meist ganz zwecklos ist, das Wasser eines Brunnens auf Typhusbacillen untersuchen zu lassen, da die Untersuchung viel zu spät vorgenommen wird. Ueberall findet sich dabei klar berechnet, daß die Zeit, welche seit dem Moment verstrichen ist, wo das Wasser vielleicht Typhusbacillen enthielt, bis zu demjenigen, wo die Probeentnahme stattfindet, im Durchschnitt 4—6 Wochen beträgt und daß es geradezu ein Wunder sein würde, wenn bei der Untersuchung des Wassers Krankheitserreger, Eberthsche Bacillen, gefunden würden. Trotzdem gibt es, soweit meine Erfahrungen reichen, in bakteriologischen Laboratorien keine Untersuchung, die häufiger oder auch nur annähernd ebenso häufig vorzunehmen wäre, als die von „verdächtigen Brunnenwässern" auf Typhusbacillen. Private, Gemeinden, Landratsämter und Kreisärzte wetteifern geradezu in dem Bestreben, das Material niemals ausgehen zu lassen und man sieht sich gezwungen, diese Dinge, obgleich man von der Aussichtslosigkeit der Untersuchung von vornherein, vielleicht durch den bloßen Anblick der in unglaublichster Weise entnommenen und verpackten Probe überzeugt ist, mit einem entsetzlichen Aufwand von Zeit und Nährböden immer wieder vorzunehmen. Wer gewohnt ist, eine Untersuchung, die er einmal vornimmt, auch gründlich zu machen, weiß, mit welchen Langweiligkeiten gerade eine solche Untersuchung auf Typhusbacillen behaftet ist.

Um nun einmal wieder nachdrücklich vor Augen zu führen, wie außerordentlich selten im Vergleich zu der Unzahl vorgenommener Untersuchungen wirklich echte Eberthsche Bacillen in Wasser gefunden worden sind, habe ich die sicheren Fälle aus der Litteratur zusammenstellen lassen. Es handelt sich im ganzen, soweit mir die Litteratur bekannt geworden ist, um folgende Daten:

Zum ersten Male in einwandfreier Weise nachgewiesen ist der Typhusbacillus in einem Trinkwasser von Kübler und Neufeld[1])

1) Z. f. H. u. I. Bd. XXXI. p. 133 ff.

die im Jahre 1898 in dem Brunnen eines Gehöfts, in welchem Typhusfälle vorgekommen waren, in zwei aufeinanderfolgenden, mehrere Wochen auseinanderliegenden Versuchen Typhusbacillen fanden und durch Anwendung der Pfeifferschen Reaktion als solche identifizierten. Der zweimalige Nachweis gelang wahrscheinlich nur, weil es sich um ein völlig stagnierendes und sehr stark infiziertes Wasser handelte. Was vor diesem Zeitpunkt an Befunden des Eberthschen Bacillus in Trinkwassern gewonnen worden ist, hält einer sachlichen Kritik nicht stand. Eine Zusammenstellung dieser Befunde kann man bei Loesener (Arb. a. d. K. G.-A. Bd. XI) und bei Löffler, Das Wasser und die Mikroorganismen (Weyls Handbuch Bd. I), einsehen. Zu den einer Kritik nicht standhaltenden Fällen scheint mir auch die Epidemie in Beuthen in Oberschlesien zu gehören, die von Bloch[1]) kurz beschrieben ist und bei der im hygienischen Institut zu Breslau aus dem verdächtigen Wasser Typhusbacillen nicht erhalten werden konnten, während es im Laboratorium des Sanitätsamtes des VI. Armeekorps gelungen sein soll, den Nachweis des Eberthschen Bacillus zu führen. Da nicht angegeben ist, auf welche Weise, mit welchen Hilfsmitteln dieser Nachweis erbracht ist, ob spezifisches Serum zur Erkennung gedient hat, fällt diese Angabe für mich außer Erwägung. Dagegen möchte ich den von Loesener aus Berliner Leitungswasser herausgezüchteten Mikroben als positiven Befund gelten lassen.

Im Jahre 1899 gibt Hankin[2]) an, aus Wasser mehrere Male Typhusbacillen isoliert zu haben, die auch mit Typhusimmunserum untersucht und als typische Eberthsche Bacillen erwiesen seien.

Aus dem Jahre 1900 liegt eine Mitteilung von Genersich[3]) vor, der auf Platten aus verdächtigem Wasser 11 sich auch bei der Agglutination als echt erweisende Typhusbacillenkolonieen gefunden hat. Die Agglutination geschah mit dem Blute von Typhuskranken und dem Blute sehr wenig hoch immunisierter Meerschweinchen in einer Verdünnung von 1:50. Es fehlt der Pfeiffersche Versuch.

In demselben Jahre findet sich eine Angabe von Hanriot[4]), der im Wasser der Vanne Typhuserreger nachgewiesen hat, auf welche Weise, das läßt sich aus dem mir augenblicklich allein zugänglichen Referat im Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIX nicht erkennen.

Fischer u. Flatau[5]) haben aus einem Brunnen eines schleswigschen Dorfes im Januar 1901 echte, auch durch Agglutination und Pfeifferschen Versuch identifizierte Typhusbacillen gefunden; in einer nach 4 Wochen aus demselben Wasser entnommenen Probe waren keine Typhusbacillen mehr nachzuweisen.

Damit ist tatsächlich die Uebersicht geschlossen. In den letzten 5 Jahren sind also in 6 Fällen im Wasser Typhusbacillen gefunden worden — wie viele Tausende negativer Ergebnisse mögen diesen 6 positiven gegenüberstehen?

Bei Ueberlegung darüber, wie es kommt, daß trotz dieser immer wieder erfolgenden abschlägigen Antworten die Nachfrage nach der

1) D. med. W. 1897. No. 50.
2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVI. p. 554.
3) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. p. 246—48.
4) Annales d'hygiène publique et de méd. légale. 1900. No. 5.
5) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIX. p. 329.

Untersuchung nicht geringer wird, ist mir aufgestoßen, daß vielleicht in der so verdienstvollen Arbeit von Schüder[1]), „Zur Aetiologie des Typhus“, eine Ursache mit für die oben charakterisierte Hartnäckigkeit zu suchen ist. Eine Ursache, die anderen sind in rein menschlichen Schwächen gelegen, die hier zu erörtern nicht am Platze ist. Schüder glaubt bei seiner Zusammenstellung der Ursachen des Typhus in ca. 77,5 Proz. der Fälle das Wasser anschuldigen zu müssen; ich bezweifle durchaus nicht, daß dieser Prozentsatz richtig ist. Ich muß aber sehr stark betonen, daß die Unterlage für diese Aufstellung der äticlogischen Faktoren nicht bakteriologische Befunde, sondern epidemiologische Erhebungen sind; daß also nicht etwa bei 77,5 Proz. aller für die Typhusübertragung in Betracht kommenden Transportmittel sich bakteriologisch Typhusbacillen haben nachweisen lassen, was Schüder ja natürlich auch gar nicht behauptet hat, was aber vielleicht nicht auf allen Seiten in genügender Weise auseinandergehalten wird.

Selbstverständlich würden wir gern bereit sein, uns der geisttötenden Arbeit immer wieder zu unterziehen — oder unsere armen Assistenten damit zu belasten — wenn für die Praxis irgend etwas dabei herauskäme, wenn für die zu ergreifenden Maßnahmen irgend etwas von dem Ausfall der bakteriologischen Untersuchung abhinge. Tatsächlich ist das niemals der Fall. Positiver Befund ist Curiosum, negativer kann die beteiligten Personen in ihrer Ansicht, daß das Wasser mit der Uebertragung der Krankheit zu tun habe, glücklicherweise nicht irre machen; beide Bescheide kommen viel zu spät, als daß sie irgend einen Einfluß auf die praktischen Maßregeln, Schließung des Brunnens etc., ausüben könnten. Wozu also die Mühen? Besonders heutzutage, wo die Möglichkeit der Uebertragung von Typhusbacillen durch das Trinkwasser für jeden Einsichtigen außer Frage steht?

Aber vielleicht ist durch neuere Untersuchungsmethoden der Nachweis des Typhusbacillus im Wasser so wesentlich erleichtert, daß die ganze oben ausgeführte Erwägung hinfällig wird. Haben wir nicht neue Nährböden, auf denen eine Unterscheidung des Typhusbacillus von verwandten Arten leichter gelingt als früher?

Es liegt mir fern, das Verdienst zu bezweifeln, das sich eine Anzahl von Autoren, wie Wurtz, Drigalski und Conradi u. a., durch Konstruktion ihrer Nährböden erworben haben. Ich glaube auch, daß durch die Versuche, eine größere Wassermenge als bisher der Untersuchung zu unterziehen, wie sie z. B. von G. Vallet[2]) neuerdings vorgeschlagen sind, eine wesentliche Verbesserung der Technik der Wasserprüfung auf Typhusbacillen erreicht worden ist. Aber — niemand kann sich darüber täuschen — so weit wie mit dem einfachen Anreicherungsverfahren bei der Cholera sind wir auch heute bezüglich des Typhusbacillus noch nicht, soweit es sich um Wasseruntersuchungen handelt.

Gesetzt aber auch den Fall, daß ein Anreicherungsverfahren für Typhusbacillen gefunden würde, auch ein solches setzt wenigstens voraus, daß ein oder einige Typhusbacillen in dem betreffenden Wasser

---

1) Ztschr. f. H. u. I. Bd. XXXVIII. p. 343.
2) Arch. de méd. expér. et d'anatom. pathol. 1901. Juillet.

noch vorhanden sind. Wir wissen aber, daß die Typhusbacillen für gewöhnlich recht schnell aus dem Wasser verschwinden; länger als 4 Wochen nach dem Moment der Infektion, also etwa 14 Tage nach dem Ausbruch der Krankheit, werden sie durchschnittlich sicher nicht darin vorhanden sein. Man setze uns also in den Stand, die Wasseruntersuchung zu einer Zeit und mit solchen Proben — hier käme auch das oben über die Schlammuntersuchung Gesagte in Betracht — vorzunehmen, die einer einfachen Erwägung zufolge den positiven Befund nicht überhaupt von vornherein ausschließen; oder man verschone uns mit der Uebersendung der „verdächtigen“ Wässer gänzlich. Widrigenfalls bleibt eben nichts anderes übrig, als die Untersuchung derartiger Wässer rundweg abzulehnen. Wer will uns verargen, daß wir unsere Zeit und die uns vom Staate zur Verfügung gestellten Mittel lieber in fruchtbringenderer Arbeit verwenden wollen?

Vielleicht ist die Hoffnung nicht unberechtigt, daß dieser besonders an die Adresse der Herren Kreisärzte gerichtete Appell in dieser gelesensten deutschen Fachzeitung ans Ziel gelangt und daß durch die Herren Kreisärzte auch die Landratsämter und Gemeinden im Sinne der obigen Ausführungen beeinflußt werden.

---



# Der Deyckesche Pepsin-Trypsin-Agar ein Nährboden für Diphtheriebacillen.

[Aus dem pathologisch-hygienischen Institute der Stadt Chemnitz.]

Von Dr. **Bruno Bosse**, Assistenten am Institute.

Kulturelle Untersuchungen, die ich vor einem Jahre an dem kgl. hygienischen Institute zu Königsberg auf Veranlassung des Herrn Prof. Pfeiffer angefangen und über die ich im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX. 1902. No. 21 berichtet habe, konnte ich in meiner neuen Stellung, dank dem liebenswürdigen Entgegenkommen meines hochverehrten Chefs, des Herrn Prof. Nauwerck, an der hiesigen städtischen Diphtherieuntersuchungsstation wieder aufnehmen.

Da es sich nämlich seinerzeit herausgestellt hatte, daß der in obiger Arbeit so bezeichnete IIa-Deycke-Agar, den ich von jetzt ab zur Vermeidung von Verwechselungen „Deyckescher Pepsin-Trypsin-Agar“ nennen werde, für die Kultivierung von Diphtheriebacillen brauchbar erschien, so lag es nahe, die praktische Verwendbarkeit dieses Nährbodens an einer größeren Menge von zur Diagnose eingesandten Proben zu prüfen.

Ausdrücklich mag hervorgehoben werden, daß dieser Deycke-Boden nicht identisch ist mit dem 1895 (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVII. p. 241) von demselben Autor angegebenen Alkalialbuminatagar, der den auf ihn gesetzten Erwartungen nicht entsprochen hat (Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. 1898). Es handelt sich ebensowenig um den von Deycke-Voigtländer 1901 im Centralblatt publizierten Alkalialbuminat-Trypsinboden, der ein ganz besonders ge-

eignetes Kulturmedium für Diphtheriebacillen darstellen sollte, dessen begeisterter Empfehlung ich mich nach den Königsberger Erfahrungen nicht anzuschließen vermochte. Vielmehr gehört der in Rede stehende Deycke-Boden jener durch Pepsin-Pankreatin-Verdauung gewonnenen Gruppe von Nährböden an, deren Wert für das Wachstum des Diphtheriebacillus Deycke selbst erkannt hat, wenn er sagt: „Der Diphtheriebacillus entfaltet auf den mit Pepsin- und Pankreatinverdauung bereiteten Nährböden eine um so größere Wachstumsenergie, je länger das Pankreasferment eingewirkt hat“ — nur daß nach meinen Erfahrungen eine mehr als 6-stündige Trypsinverdauung nicht ratsam ist.

Nach vielfachen Versuchen möchte ich folgende Herstellungsweise, die aber peinlich genau innegehalten werden muß, empfehlen:

Man besorgt sich vom Roßschlächter (für den Preis von 30 bis 40 Pfennige) 250 g frischen Pferdeherzfleisches, befreit dasselbe mit Pinzette und Schere von allem gröberen Fett und Sehnen und zerkleinert es durch Wiegemesser, Schaben oder mittels Fleischmaschine solange, bis es in feinste lockere Partikelchen zerfallen ist. Von diesen wiegt man 125 g ab, fügt 3 g frischesten (!) Pepsinum Witte-Rostock, 400 ccm Aqua destillata und 2 ccm 50-proz. Salzsäure hinzu und bringt das Ganze im Erlenmeyer bei 37° in den Brütschrank zur künstlichen Verdauung. Hier verbleibt das Gemisch unter gelegentlichem Umschütteln und Kontrollierung der Reaktion mit eventuellem Salzsäurezusatz 2 Tage, nach welcher Zeit man einen Bodensatz von kleinsten, weißgrauen Partikelchen vorfindet. Beim nachfolgenden Filtrieren, das man des ausströmenden Geruches wegen mit Vorteil über Nacht anstellt, bleiben 1—2 Eßlöffel partiell verdauten Materials auf dem Filter zurück. Mit einer Probe vom Filtrate wird nun die Biuretreaktion vorgenommen, die unter allen Umständen mit KOH und stark verdünntem $CuSO_4$ positiv ausfallen muß (Violettfärbung). Eine Neutralisation vor dem Filtrieren erscheint unnötig, da eine Fortsetzung der Verdauung bei Zimmertemperatur so gut wie unmöglich ist und andererseits die Erhaltung der sauren Reaktion während der 12-stündigen Filtration am besten vor Fäulnis schützt. Schon Deycke machte übrigens bei der Besprechung der wirksamen Agentien seiner Böden darauf aufmerksam, daß man bei Diphtheriebacillen, unbeschadet der Wirksamkeit der Nährböden, auf eine Steigerung der Alkalescenz verzichten kann, da jene nicht von dieser allein abhängt. — Das gewonnene Filtrat wird mit 3,9 g Natrium carbonicum siccum (!) versetzt und sterilisiert.

Diesem ersten Akte der Herstellung, der imitierten Magenverdauung, folgt der zweite, die Einwirkung von Pankreasferment. Zu dem Zwecke hat man sich in folgender Weise eine Trypsinlösung hergestellt: Ein mit dem Messer fein zerschnittenes Schweinepankreas (im Volksmunde Weißleber genannt) wird für 24 Stunden im Eisschranke gehalten, um dann, mit 40 ccm reinen Glycerins und 160 ccm destillierten Wassers versetzt, einige Tage ebenda extrahiert zu werden. Nach Zusatz von einem Stückchen Kampfer hält sich der ausgepreßte Saft unbegrenzt im Eisschranke.

Von dieser Lösung werden mittels steriler Pipette 15 ccm dem sterilisierten Filtrate hinzugefügt. Die Mischung kommt dann auf genau 6 Stunden in den Brütschrank bei 37°. Sie muß nach dem Herausnehmen sofort im Dampftopfe sterilisiert und mit 50-proz. Salzsäure

neutralisiert werden. Danach sind 1950 g Wasser, 6 g NaCl, 39 g Agar-agar hinzuzusetzen. Die Masse wird dann 3 Stunden gekocht, im Dampftopfe durch Watte filtriert, in Kölbchen gefüllt und wie üblich sterilisiert.

Auf diese Weise erhält man einen vollkommen durchsichtigen, leicht opalescierenden Nährboden, gelegentlich mit eingelagerten konsistenteren Flöckchen, die bei der Betrachtung der Platten in keiner Weise stören. Der Nährboden darf nur einen leichten, durchaus nicht unangenehmen, etwas an Käse erinnernden Geruch ausströmen. Es ist ratsam, nur eine beschränkte Zahl von Platten auszugießen, um allfällige oberflächliche Schimmelpilzansiedelungen zu vermeiden, und es ist weiterhin unerläßlich, sofort nach dem Erstarren der Agarschicht die Schalen umzulegen. Sonst sammelt sich das Kondenswasser statt im Deckel der Petri-Schale auf der Oberfläche des Nährbodens, und nach dem Ausstreichen mittels des Wattebausches erhält man keine distinkten, sondern langausgezogene, verwaschene Kolonieen. Es gelte als Regel, daß man nur vollkommen trockene Platten beimpft, die in der Folge auch trocken bleiben. Der Boden hält sich, kaltgestellt, sicher 2 Monate, gelegentlich auch länger.

Wenngleich Max Neisser (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXIV. p. 466) meint, daß das Suchen nach einem anderen Diphtherienährboden nicht erforderlich ist, da das Loefflersche Blutserum allen Ansprüchen genüge, so möchte ich mich vielmehr der Ansicht meines hiesigen Amtsvorgängers Schoedel (Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 26) anschließen, der gelegentlich seiner Nachprüfung des Joosschen Serumagars als Mängel des Loeffler-Serums in erster Linie seine Undurchsichtigkeit, in geringerem Grade auch die Umständlichkeit der Herstellung und die beschränkte Haltbarkeit rügt. Ich hätte noch am Serumboden die leichte Möglichkeit der Ueberwucherung des Diphtheriebacillus durch seine Begleitparasiten auszusetzen sowie die manchmal überreichliche Kondenswasserbildung, die ein sauberes und ungefährliches Arbeiten erschwert. In allen diesen Beziehungen ist der Deyckesche Pepsin-Trypsin-Agar dem Blutserum überlegen. Als seine Hauptvorzüge erscheinen mir jedoch folgende (schon in der früheren Arbeit festgelegte):

1) seine relativ elektive Wirkung durch Unterdrückung der Begleitparasiten;

2) seine Durchsichtigkeit im Verein mit dem charakteristischen Aussehen der Diphtheriekolonieen auf ihm.

Dabei begünstigt dieser Deycke-Boden das Wachstum der Diphtheriebacillen derart, daß häufig ein „enorm dicker Rasen“ entstand, den niemand auf bloße Inspektion hin für eine Diphtheriekultur gehalten haben würde. Allerdings trifft das nur für Laboratoriumsreinkulturen zu, die nach feinster Verreibung einer kleinen Oese über die ganze Platte hin innerhalb 24 Stunden einen dichten, weißgrauen Belag erzeugen, welcher oberflächlich eintrocknet und an den am dichtesten bewachsenen Stellen durch Spaltbildungen zerklüftet wird. Es empfiehlt sich, bei allen Versuchen eine solche, mittels Formalin abgetötete und mit einem luftdicht schließenden Glasdeckel überdachte Testplatte zur Hand zu nehmen, um sich die Diagnose der Kolonieen zu erleichtern.

Dieselben erscheinen (mit Leitz Objektiv 2 und Okular 3 bezw.

Objektiv 3 und Okular 1 betrachtet) als nicht transparente, gelblichbraune, grobgranulierte, stets mit ausgezacktem Rande versehene, rundliche Häufchen. Der Rand ist etwas durchscheinender als das Zentrum. Bei reichlicherem Wachstume legen sich die einzelnen Kolonieen polygonal aneinander, so daß eine ganz charakteristische Täfelung unter dem Mikroskop entsteht. Auf einem gut konstruierten Nährboden müssen Oberflächenausstriche von lebensfähigen Laboratoriumsreinkulturen das eben geschilderte Bild darbieten, widrigenfalls der Boden sich zu Sekretabimpfungen nicht eignet. Schon nach 6 Stunden zeigt sich übrigens ein hauchförmiger, grauer, diffuser Belag, bestehend aus den geschilderten Kolonieen, der proportional der Zeit sich innerhalb 24 Stunden voll auswächst.

In den ersten Stunden verhalten sich die Einzelindividuen in Klatsch- oder Ausstrichpräparaten entsprechend der besseren Ernährung bedeutend stärker, plumper, gleichmäßiger und intensiver gefärbt, als man sie von der Loeffler-Platte her zu sehen gewöhnt ist. Hält man die Platten aber bei 35° C im Brütofen, so ähneln sie den bekannten Formen schon mehr, weshalb diese Temperatur mit Vorteil zu benutzen ist. Jedenfalls sind die Diphtheriebacillen stets auf Grund ihrer charakteristischen Anordnung in Gestalt loser Haufen mit fingerförmiger Verteilung der Individuen zu erkennen. Sie geben auch schon in der 6.—9. Stunde die Neissersche Polkörnchenfärbung und die ihr nahestehende, neuerdings veröffentlichte, recht gute Resultate gebende Körnchenfärbung nach Ficker (Hygien. Rundschau. 1902. No. 22) mittels dünner, milchsaurer Methylenblaulösung. Die Ueberlegenheit des Deycke-Bodens über die Serumplatte geht auch daraus hervor, daß es mir gelang, einen im Eingehen begriffenen Laboratoriumsstamm von Diphtheriebacillen, der sich auf Glycerinagar und Blutserum nicht weiterzüchten ließ, auf der Deycke-Platte zu neuem, üppigem Leben zu erwecken.

Nachdem wir uns auf diese Weise nochmals von der Brauchbarkeit des Pepsin-Trypsin-Agars für Diphtheriereinkulturen überzeugt hatten, gingen wir dazu über, ihn neben dem Loeffler-Serum und vergleichsweise mit diesem zur Diagnose der uns übersandten Proben zu verwerten. Dieselben entstammen in der Mehrzahl Krankheitsfällen, bei denen die klinische Diagnose zweifelhaft ist, und Rekonvalescenten, bei denen zum Zwecke der Entlassung aus der Behandlung bezw. des erneuten Schulbesuchs die Bakterienfreiheit zu konstatieren war [1]). Diese

---

1) Die Ordnung für die gesundheitliche Ueberwachung der städtischen Volksschulen zu Chemnitz durch Schulärzte und Lehrer enthält darüber im III. Absatz, betitelt: Mitwirkung bei der Ueberwachung der Gesundheit der Schulkinder, im § 16f bis k folgende Bestimmungen:

Kinder, welche an ansteckenden Krankheiten erkrankt waren, sind erst nach völliger Genesung und, wenn hierüber ein ärztliches Zeugnis nicht vorgelegt werden kann, bei Pocken, Scharlach und Diphtherie erst nach 6, bei Masern erst nach 4 Wochen vom Tage der Erkrankung zum Schulbesuche wieder zuzulassen. Bei Diphtherie ist außerdem die Wiederzulassung stets von Beibringung einer Bescheinigung der städtischen Diphtherieuntersuchungsstation über vorhandene Bacillenfreiheit abhängig zu machen.

Gesunde Kinder, in deren Wohnung Pocken, Scharlach oder Diphtherie auftreten, sind gleichfalls bis zur Genesung aller Erkrankten, in der Regel 6 Wochen lang, vom Beginn der letzten Erkrankung an gerechnet, vom Schulbesuche ausgeschlossen.

Falls jedoch durch ein Zeugnis des behandelnden Arztes beziehentlich des Schul-

Auswahl des Materials bringt es mit sich, daß der Nachweis der Diphtheriebacillen häufig ein mühseliger war, der nur unter Heranziehung aller kulturellen und tinktoriellen Hilfsmittel und bei mehrmaliger Untersuchung zu verschiedenen Zeiten gelang.

Der Ausstrich erfolgte gewöhnlich in der Art, daß abwechselnd die Serum- und die Deycke-Platte strichweise beschickt wurde. Womöglich wurden die bei 30° C gehaltenen Platten nach 6 Stunden zum ersten Male besichtigt. Ich ging (nach Analogie von M. Neisser) stets in der Weise vor, daß ich zunächst von der Loeffler-Platte zur Orientierung ein mit alkalischer Methylenblaulösung gefärbtes Klatschpräparat machte, dem ich eine der beiden Polkörnchenfärbungen folgen ließ, während ich mich auf der Deycke-Platte nach so kurzer Zeit meist mit der einfachen Lupenbetrachtung begnügen konnte. Bei negativem Resultate blieben die Platten stehen, um nach der 9. Stunde ihrer Kultivierung bezw. erst am nächsten Morgen von neuem in derselben Weise zur Untersuchung zu kommen. Solange ich Wert legte auf die charakteristische Lagerung der Diphtheriebacillen zueinander, bediente ich mich des Klatschpräparates, wofern noch keine Ueberwucherung eingetreten war. Bei der Körnchenfärbung indes, die nur durch Farbenkontraste wirkt, wurde meist ein Oesenabstrich von mehreren Stellen in einem Tropfen Wasser gleichmäßig verrieben. Von der Deycke-Platte sind jedenfalls Klatschpräparate solange vorzuziehen, als isolierte Diphtheriekolonieen gewachsen sind, die zu klein erscheinen, um leicht mit der Nadel einzeln herausgehoben werden zu können.

Es wurden im ganzen 200 Proben in dieser Weise geprüft; von ihnen fielen 51 positiv, 149 negativ aus. 29 Fälle wurden davon in der 6. Stunde untersucht; mit positivem Ausfall sind von dieser Zahl nur 3 verzeichnet. Daraus scheint hervorzugehen, daß in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle unseres Materials die Diphtheriebacillen eine gewisse Zeit gebrauchten, bis sie sich dem künstlichen Nährboden anzupassen vermochten. Die Zeit ist verschieden je nach dem Grade der Lebensenergie der überimpften Infektionserreger, welche durch den Kampf gegen die natürlichen Schutzmittel des Körpers, durch die erwiesenermaßen schon vor der Sekretabnahme gelegentlich vorgenommene Heilseruminjektion, durch lokale Behandlung mit Gurgelungen vor Eintreffen des Arztes, durch Eintrocknen am Wattebausch und ähnliches bedeutend herabgesetzt sein kann. Dieser Anschauung entspricht wohl auch die Tatsache, daß die meisten positiven Resultate nach 14—20-stündiger Beobachtungsdauer erzielt wurden. Eine weitere Steigerung der Leistungsfähigkeit unserer künstlichen Nährböden noch über die bisher mögliche Frühdiagnose der Diphtheriebacillen innerhalb der 6. Stunde hinaus, so erwünscht sie vielleicht im Interesse der Kranken wäre, möchte daher mit Rücksicht auf die Anpassungsschwierigkeiten nahezu ausgeschlossen sein.

---

arztes die völlige Absonderung der erkrankten Person bestätigt oder die letztere ins Krankenhaus verbracht wurde oder falls die gesund gebliebenen Kinder aus der Wohnung entfernt wurden, dürfen die letzteren die Schule dann wieder besuchen, wenn sie während einer 14 Tage vom Beginn der Absonderung dauernden Frist selbst gesund geblieben sind und im Falle der Diphtherie von der städtischen Diphtherieuntersuchungsstation auch rücksichtlich ihrer die Bacillenfreiheit bescheinigt worden ist.

Für Lehrer, welche selbst von ansteckenden Krankheiten befallen werden oder in deren Wohnungen solche Krankheiten auftreten, gelten die Bestimmungen unter f bis h.

In Bezug auf die Resultate unserer vergleichenden Untersuchungen läßt sich sagen, daß die Diagnose, da, wo sie sich auf der Serumplatte in frühestens 5—6 Stunden positiv stellen ließ, auf der Deycke-Platte gleichfalls feststand. Nur in wenigen Fällen waren die Untersuchungsbefunde nicht kongruent: 3mal blieb das Wachstum von Diphtheriekolonieen auf der Deycke-Platte aus, während die Loeffler-Platte 1mal reichliche, 2mal spärliche Diphtheriebacillen ergab. Demgegenüber stehen aber 4 Fälle, die bei Deycke reichliche Diphtheriebacillen ergaben, auf der Loeffler-Platte aber keine oder nicht sichere, so daß von der positiven Diagnose Abstand genommen wurde. Ich stehe nicht an, für diese Differenzen Ungleichheiten der Verimpfung anzuschuldigen, wie sie bei geringem Materiale mit oft spärlichen Bacillenleibern trotz allen Strebens nach unparteiischer Verteilung nicht ausbleiben werden. Zum Beweise mag ein Fall angeführt werden, der bei der ersten Abimpfung ein positives Präparat vom Deycke-Boden allein ergab, während bei der zweiten Abimpfung am Tage darauf der Loeffler-Boden positiv ausfiel und der Deycke-Boden negativ.

Von der Retardierung des Wachstums der Begleitparasiten bekommt man eine Vorstellung, wenn man hört, daß bei einer Beobachtungsdauer von 6—24 Stunden die Deycke-Platten 31mal unter 200 makroskopisch überhaupt kein Wachstum zeigten; 1mal fehlte ein solches sogar mikroskopisch. Diese Hemmung erleichtert natürlich im Verein mit der eigentümlichen Form der Diphtheriekolonieen die Beurteilung der wenig zahlreichen, mit der Lupe zu prüfenden Kolonieen außerordentlich, um so mehr als in frühen Stunden in positiven Fällen nur Diphtheriekolonieen mikroskopisch anzutreffen sind. In der Regel kommt es nach 24 Stunden zu keinem weiteren Wachstum mehr, und bis dahin erhält man gewöhnlich einen feinen, eben sichtbaren, rauchgrauen Ueberzug auf allen Impfstrichen. Ueppiges Angehen von Begleitparasiten zu einer Zeit, wo Diphtheriebacillen noch gut wachsen können, deutet nach meinen Erfahrungen auf eine Verminderung der Leistungsfähigkeit des Nährbodens.

Die Lupendiagnose der Diphtheriekolonieen bietet dem Eingearbeiteten meist keine Schwierigkeiten, wenn man sich nur an die obige Beschreibung hält und für zweifelhafte Fälle eine Testplatte zur Verfügung hat. Von Streptokokkenkolonieen konnte ich schon früher berichten, daß sie ihnen zwar ähnlich sind, doch viel durchsichtiger, fast farblos, leicht granuliert, daß sie vor allem einen glatten Rand haben und infolge der Wachstumsretardierung nie zu der erwähnten Felderung führen. Nur ältere Streptokokkenkolonieen haben allerdings marginale Auszackungen, die aber bedeutend gröber sind; sie werden dadurch unregelmäßig rundlich und zeichnen sich im übrigen durch eine eigenartige wellige Struktur aus, die in Gestalt von Buckeln auf den Kolonieen zu Tage tritt. Heute möchte ich mich kurz so fassen: Alle glattrandigen und weit ausgezackten, alle doppeltkonturierten und aufleuchtenden, alle feingranulierten und durchsichtigen, alle flaschenförmig ausgebreiteten Kolonieen, solche mit fadenähnlichen Ausläufern, alle zentral oder exzentrisch buckelförmig aufgetriebenen und alle frauenhaarähnlich gewellten Kolonieen sind von vornherein zu vernachlässigen! Immerhin gibt es diphtherieähnliche Kolonieen, die namentlich nach kurzem Aufenthalte im Brütofen und je nach dem Grade der Uebung des Beobachters nur durch Betrachtung der Einzelindividuen im Klatsch-

präparate zu differenzieren sind. Das anscheinende Fehlen von Diphtheriebacillenkolonieen bei Lupenbetrachtung beweist übrigens nicht das Fehlen von Diphtheriebacillen. Sind solche in der Probe nur spärlich vorhanden, gehen sie auf der Platte nicht mehr zu Kolonieen an, so erhält man im Methylenblaupräparate gelegentlich noch mitten in den Kokkenhaufen Einzelstäbchen, die meist nur diphtheriebacillenähnlich sind. Hier bewährt sich gerade die Polkörnchenfärbung, indem sie diese Stäbchen mit Wahrscheinlichkeit als echte Diphtheriebacillen zu identifizieren gestattet. Die Anfertigung eines Abstrichpräparates ist daher selbst dann noch nötig, wenn sich bei Lupenvergrößerung keine Diphtheriekolonieen erkennen lassen. Mir gelang es auf diese Weise in 7 Fällen (darunter 6mal mit Neisser-Färbung) die positive Diagnose zu sichern.

Gemeiniglich genügt die einfache Methylenblaufärbung zum Nachweise wenigstens leidlich zahlreicher Diphtheriebacillen. Es sei hier zunächst erwähnt, daß Ausstrichimpfungen von unserem Exsudatmaterial ex faucibus nur selten ein so üppiges Wachstum veranlaßten wie beim Abstriche von Laboratoriumsreinkulturen. Infolgedessen sind auch die Einzelindividuen weniger vielgestaltig wie in diesen, bei denen die obersten vertrocknenden Schichten zahlreiche Involutionsformen bis zur feinsten streptokokkenähnlichen Segmentierung darbieten. Vielmehr ähneln sie durchaus dem vom Loeffler-Boden her bekannten Bilde, nur daß sie meist ziemlich gut genährt, intensiver und gleichmäßiger gefärbt, auch größer, häufig keulen- oder kolbenförmig und seltener tannennadelähnlich mit spitz zulaufenden Enden und dickem, gleichmäßig gefärbtem Leibe oder gestreckt kommaförmig, zu zweien mit dem breiten Rücken des Keils aneinanderliegend, erscheinen.

Pseudodiphtheriebacillen, wie ich sie mir selbst züchtete und in einem Stamme der Güte meines Freundes Symanski-Königsberg verdanke, kommen differentialdiagnostisch nicht in Betracht, da sie in ganz anderer Weise wachsen. Xerosebacillen traten bei der einen zu meiner Serie gehörigen Abimpfung von Konjunktivalsekret nicht in die Erscheinung. Am meisten Veranlassung zu Verwechselungen geben Streptobacillen, um so mehr als ihre Kolonieen auf dem Deycke-Boden manchmal echten Diphtheriekolonieen ähneln und die Einzelindividuen die Neisser-Färbung geben können. Indessen lassen sie sich zumeist durch ihre Ketten- bezw. Fadenbildung, ihre plumpe Größe und intensive Färbbarkeit, ihre großen, kreisrunden Körner unterscheiden.

Besondere Erwähnung verdient das Verhalten der Deycke-Diphtheriebacillen gegenüber der Neisserschen Zweifarbenreaktion. Zwar verlangt Neisser selbst unbedingt Serumkulturen zur Anstellung der Reaktion, jedoch wird dieselbe sowohl von frischen, aus der Leiche stammenden Diphtheriebacillen wie von Joos- und Deycke-Kulturen angenommen. Leider ist die Reaktion keine konstante. Einmal ließ sie sich schon nach 5-stündigem Aufenthalte im Brütofen erzielen; häufig tritt sie zwischen 10 und 20 Stunden ein; mit Sicherheit kann man aber auf ihr Auftreten erst nach 20 Stunden rechnen. Diese Tatsache steht in direktem Widerspruche mit dem stets zu beobachtenden Gelingen der Doppelfärbung in 6—7-stündigen Abimpfungen von Laboratoriumsreinkulturen aus. Man muß wohl annehmen, daß die Anpassungsfähigkeit von aus dem menschlichen Körper stammenden Diph-

theriebacillen an die künstlichen Nährböden eine langsame ist, so daß die Bildung von Polkörnchen in ihnen mehr oder minder Zeit in Anspruch nimmt, während Laboratoriumskulturen sich den anfangs ungewohnten Nährsubstraten schon angepaßt haben. Daher lassen sich wohl auch in frühen Stunden trotz zahlreich vorhandener Diphtheriebacillen immer nur relativ spärliche Polkörnchen auffinden, deren Zahl mit der Fortdauer der Kultivierung und der Abwirtschaftung des Nährbodens zunimmt. Zur Beschleunigung der Polkörnchenbildung sowohl auf der Loeffler- wie auf der Deycke-Platte brachte ich die Platten, in der Anschauung, daß es sich dabei um Degenerationserscheinungen der Bacillen handle, zu mehrstündigem Aufenthalt in den Eisschrank, wo sie rapid zunahm. Entsprechend der besseren Ernährung auf dem Deycke-Boden bleibt sie aber immer unter derjenigen der Loeffler-Platte. Die Modifikation nach Ficker, die wir trotz der Bedenken des Autors gerade auf ihre allgemein praktische Verwendbarkeit prüften und die uns im Verein mit den übrigen Kriterien (kulturelle und morphologische Eigenschaften), wie gesagt, recht gute Resultate gab, entspricht im allgemeinen der Neisserschen Methode, doch finden sich auch da merkwürdige Inkongruenzen. So blieb in einem Falle die Neisser-Färbung negativ, während das Präparat nach Ficker zahlreiche Körnchen zeigte. Der umgekehrte Fall ereignete sich aber auch. Anfängern dürfte die Beurteilung nach Ficker leichter fallen, da die im Wasser gequollenen Bacillen bedeutend größer erscheinen und ihre blauen Polkörnchen ohne Kontrastfärbung mehr in die Augen springen. Aber auch mit ihr können Täuschungen mit Streptobacillen — ganz abgesehen von Kokken, Diplokokken, Sarcine und Hefearten mit Körnchen — vorkommen, so daß Neisser gewiß recht hat, wenn er davor warnt, sich allein auf Körnchenfärbungen zu verlassen[1]). Auch auf die Serumplatte können Mängel, wie Ausfall der Polkörnchenfärbung und Wachstum nur ganz vereinzelter Stäbchen von Diphtheriebacillenform, zu Tage treten, während Pseudodiphtheriebacillen gefärbte Körnchen zeigen können, eine Erfahrung, die auch Neumann-Kiel (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. Heft 1) und Ficker Berlin (l. c.) gemacht haben. Der Wert der Neisser-Methode als differentiell diagnostisches Hilfsmittel wird dadurch nicht herabgesetzt, daß man objektiv die Grenzen ihrer Leistungsfähigkeit feststellt.

Titrierung des Aciditätsgrades der 24—48-stündigen Bouillonkultur und Tierversuche haben wir in dieser Reihe nicht ausgeführt, da sie für die alltägliche Praxis zu umständlich sind.

Hinzufügen möchte ich noch, daß es mir 1mal unter 2 Versuchen gelang, mit einem Ausstrich unverdünnten Kotes aus der Flexura sigmoidea eines an Diphtherie verstorbenen Kindes zwischen den im Wachstum retardierten Coli-Kolonieen typische Diphtherie- und Streptokokkenkolonieen zu züchten, womit die Schoedelsche Behauptung vom Vorkommen der Diphtheriebacillen im Magendarmkanale eine neue Stütze erhält. Vielleicht ließe sich weiterhin der Deycke-Boden mit Vorteil zu ähnlichen Experimenten verwenden.

Zum Schlusse fasse ich mich dahin zusammen, daß der Deyckesche Pepsin-Trypsin-Agar einen geeigneten Konkurrenzboden des Loeffler-

1) In ähnlichem Sinne äußert sich auch Ficker.

Serums darstellt und daß er bei diagnostischen Proben, Stuhluntersuchungen u. s. w. durch lebhafte Retardierung des Wachstums der Begleitparasiten, durch seine Durchsichtigkeit und typische Form seiner Kolonieen unter Zuhilfenahme der Körnchenfärbung bei verdächtigen Stäbchen die Diagnose leichter und sicherer zu gestalten vermag. Dagegen leistet er, was für die berechtigten Forderungen der Praxis von Wichtigkeit ist, zur Schnelldiagnose nicht mehr als der Loeffler-Boden.

Herrn Prof. Nauwerck, der die Güte hatte, in einem Viertel der Fälle die Diagnose auf der Loeffler-Platte persönlich zu kontrollieren, sage ich für das der Arbeit bezeugte Interesse meinen ergebensten Dank.



# Ein Metallverschluss für Reagensgläser.

Von **Friedrich Glage** in Hamburg.

Vielfach pflege ich Kulturröhrchen, die ich längere Zeit vor dem Eintrocknen schützen will, mit einer Metallkappe zu versehen, die nicht allein den gedachten Zweck erfüllt, sondern auch gut aussieht und leicht anzufertigen ist.

Man beschaffe sogenanntes „Fusible Metal“ [1]). Dasselbe schmilzt in siedendem Wasser und ist eine Legierung, ähnlich dem Woodschen, Roseschen oder Lipowitzschen Metall. Durch Erwärmen mittels der Flamme des Bunsen-Brenners läßt man das Metall genau wie beim Erweichen einer Stange Siegellack so abschmelzen, daß nacheinander Tropfen desselben aus $^1/_4$—$^1/_2$ m Höhe auf eine Glasplatte fallen. Alsbald verwandelt sich jeder Tropfen unter Erstarren in eine etwa markstückgroße, dünne Metallscheibe. Diese Scheibe legt man auf die Oeffnung des zu verschließenden Reagensglases, nachdem man vorher den Wattepfropf so weit hineingeschoben hat, daß der Glasrand denselben etwas überragt. Indem man nun das Reagensglas mit der linken Hand senkrecht hält und in dieser Stellung langsam um die Längsachse dreht, bringt man durch Annähern der Flamme des Bunsen-Brenners den die Glaswand überragenden Rand der Metallscheibe vorübergehend zum Schmelzen. Derselbe legt sich dabei allseitig genau an das Glas an, erstarrt schnell, und der Verschluß ist fertig. Zwecks Oeffnens des Glases drehe man die Kappe kräftig, wobei sich der umgeschlagene Rand aufbiegt, so daß der Verschluß abgehoben werden kann.

Die Metallkappen sind weit sauberer, wie Verschlüsse aus Harz oder Paraffin. Sie schützen die Kultur vor dem Eintrocknen mehrere Monate, weit länger als eine Gummikappe, aber nicht dauernd, wie etwa ein Lackpfropf.

---

1) Zu erhalten bei Krauth, Hamburg, Gänsemarkt 58.

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

## Inhalt.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXIII. No. 7.



# Eine lepraähnliche Erkrankung der Haut und der Lymphdrüsen bei Wanderratten.

[Aus der bakteriologischen Station zu Odessa.]

Von Dr. **W. K. Stefansky** in Odessa.

Mit 1 Tafel und 1 Figur.

Kurze Zeit, nachdem Petri und Rabinowitsch ihre Arbeiten über säurefeste Bacillen in Milch und Butter veröffentlicht hatten, lenkten die säurefesten Stäbchen immer mehr und mehr die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich. Innerhalb weniger Jahre erschienen viele dem Studium dieser großen Bakteriengruppe gewidmete Arbeiten. Abgesehen von dem großen theoretischen Interesse hat diese Mikroorganismengruppe eine hohe praktische Bedeutung. Es sind zur Zeit schon sehr viele säurefeste Stäbchen beschrieben, welche sowohl beim Menschen als bei Tieren angetroffen werden und sehr leicht zur Verwechselung mit Tuberkulose Anlaß geben können.

In menschlichen Sekreten und Exkreten findet man solche Bacillen ziemlich häufig. Sie wurden gefunden bei der Lungengangrän, auf den Mandeln, im Nasenschleim sowohl gesunder als kranker Menschen, in pleuritischen Exsudaten, im Sputum bei Bronchitis. Mironescu (1) hat bei der Untersuchung eines typhusverdächtigen Kranken in den Faeces säurefeste Stäbchen gefunden, welche beim Menschen keine Krankheitssymptome hervorriefen. Moeller (2) fand säurefeste Stäbchen sehr häufig bei völlig gesunden Leuten im Nasenschleim, im Zahn- und Zungenbelag und auf den Mandeln. Auf der Oberfläche der Haut, besonders in den Spalten, befinden sich, wie bekannt, Smegmabacillen, welche häufig zur irrigen Diagnose der Tuberkulose der Harnwege Veranlassung gaben.

Säurefeste Stäbchen wurden auch bei Tieren in verschiedenen Absonderungen und Ausscheidungen gefunden. Moeller (3) fand dieselben in den Darmentleerungen der Kühe, Pferde, Ziegen und Schweine und isolierte sie in Reinkultur. Lydia Rabinowitsch (4) und Petri (5) isolierten Bacillen von derselben Art aus Milch und Butter; der häufige Befund der säurefesten Stäbchen in diesen Nahrungsmitteln führte dazu, daß man sich jetzt mit der bakterioskopischen Untersuchung dieser Produkte auf Tuberkulose nicht mehr begnügt. In der allerletzten Zeit gelang es Moeller (6), säurefeste tuberkelbacillenähnliche Stäbchen in Tuberkelknoten von perlsuchtkranken Rindern und Schweinen zu finden.

Sehr häufig wurden säurefeste Stäbchen auf Pflanzen (Timotheegras, Timotheesamen, Getreidekörnern) und schließlich in der Ackererde gefunden.

Viele von den erwähnten säurefesten Stäbchen erwiesen sich bei der künstlichen Impfung der Tiere pathogen für die letzteren. Bei der subkutanen Injektion von Reinkulturen erkranken die Tiere nicht; es bildet sich nur manchmal an der Impfstelle ein Absceß. Bei der Impfung in die Bauchhöhle kann man bei Tieren die Bildung von Knötchen hervorrufen, welche histologisch von echten Tuberkeln sehr schwer zu

unterscheiden sind (Hölscher [7]). Indessen unterscheidet sich der Verlauf des Krankheitsprozesses wesentlich darin, daß der Krankheitsherd lokalisiert bleibt, die Bacillen sich nicht vermehren und keine Bildung neuer Herde zustande bringen. Bezüglich des Ausganges der Krankheitsveränderungen besteht der Unterschied darin, daß bei Tuberkulose Verkäsung, bei der Infektion mit säurefesten Stäbchen Vereiterung oder Organisation der neugebildeten Masse eintritt.

Man kann durch Einspritzung dieser Bacillen in die Arterien oder in die Organe der Tiere, wie es Lubarsch (8) tat, eine Bildung von Knötchen hervorbringen, die mit tuberkulösen große Aehnlichkeit haben. Eine andere Eigenschaft, welche die säurefesten Stäbchen den tuberkulösen nähert, ist ihre Fähigkeit, aktinomykoseähnliche Formen zu bilden. Diese Formen sind ausführlich von Lubarsch (9) beschrieben, welcher zu diesem Zwecke besonders die Impfung in die Organe benutzte.

Die beschriebenen morphologischen Eigenschaften der säurefesten Stäbchen, ihr Verhalten zu den Färbemitteln und die Fähigkeit, pathologische Veränderungen mit Knötchenbildung hervorzurufen, weisen darauf hin, daß zwischen denselben und den Tuberkelbacillen eine ziemlich enge Verwandtschaft existiert. Es ist deshalb von großem Interesse, eine selbständige Erkrankung zu untersuchen, welche von säurefesten Stäbchen hervorgerufen wird. Leider ist die einzige bekannte Erkrankung sehr unvollständig beschrieben. Wir sprechen nämlich von der Verruga du Pérou, welche von Nicolle (10) und Letulle (11) beschrieben wurde.

Man unterscheidet zwei Krankheitsformen derselben, die innere Form, bei welcher allgemeine Erscheinungen (Fieber, Mattigkeit u. s. w.) beobachtet werden, und „Forme à tumeurs“ mit Geschwulstbildung auf der Haut und den Schleimhäuten. Auch bei der ersten Krankheitsform kommt Geschwulstbildung vor, aber nur in den inneren Organen, in der Leber, der Milz, den Lungen. Bei mikroskopischer Untersuchung wurden in den Geschwülsten epithelioide und Riesenzellen und käsige Degeneration gefunden. Die Hautform, welche von Letulle beschrieben wurde, charakterisiert sich durch Infiltration der Haut und des Unterhautbindegewebes mit Leukocyten beim Fehlen von Riesenzellen und käsiger Degeneration. Sowohl bei der kutanen als auch bei der inneren Form begegnet man in den Geweben in großer Menge den dem Tuberkelbacillus ähnlichen säurefesten Stäbchen.

Eine andere selbständige, durch das säurefeste Stäbchen hervorgerufene Erkrankung wurde von uns bei Ratten beobachtet. Wie sich erwies, ist dieser Prozeß unter ihnen sehr verbreitet, derselbe hat mit der Tuberkulose nichts Gemeinschaftliches und ruft vielmehr ein der Lepra sehr ähnliches Krankheitsbild hervor.

Im Oktober 1901 wurden in Odessa zwei Pestfälle konstatiert. Zu prophylaktischen Zwecken ist in großem Maße eine Vernichtung der Ratten vorgenommen worden. Dank diesem Umstand war die bakteriologische Station während mehrerer Monate im Besitz von einem enormen Untersuchungsmaterial. Unter diesen Ratten befanden sich alle drei in Odessa vorkommenden Arten, und zwar *Mus decumanus* (Wanderratte), *Mus alexandrinus* und *Mus rattus*.

Die letzten zwei Arten leben gewöhnlich auf Schiffen und kommen deshalb häufiger in der Hafengegend vor; die Wanderratte lebt hauptsächlich auf der Erde in den Wasserabflüssen, in der Nähe des Süß-

wassers. Eben bei der Wanderratte konstatierten wir Erkrankungen, welche durch säurefeste Stäbchen hervorgerufen wurden.

Diese Erkrankung ist unter denselben sehr verbreitet, so daß im allgemeinen ca. 4—5 Proz. davon befallen sind. Entsprechend der Lokalisation des Prozesses kann man 2 Krankheitsformen unterscheiden: eine rein drüsige und eine hautmuskuläre (mit gleichzeitiger Beteiligung der Drüsen).

I. Die allerhäufigste — die rein drüsige Form — ist von uns an 20 Ratten eingehend untersucht worden. Bei dieser Krankheitsform ergiebt die äußere Untersuchung der Ratte nichts Besonderes. Die Erkrankung lokalisiert sich nur in den subkutanen Lymphdrüsen: axillaren, inguinalen und submaxillaren. Die Lymphdrüsen sind vergrößert, erreichen manchmal Bohnengröße, sind hart, von weißlicher Farbe. Auf dem Durchschnitt ist das Gewebe gleichmäßig hart, selten werden auf der Schnittfläche kleine Herde im Zustand der Erweichung angetroffen. Es können entweder alle Drüsen (inguinale, axillare, submaxillare) ergriffen sein, was selten vorkommt, oder es erkranken einige Drüsen, zuweilen nur eine. Im letzten Falle siedelt sich der Prozeß gewöhnlich in der Axillardrüse an. Bei dieser Krankheitsform sowie bei allen übrigen wurden in den inneren Organen keine Veränderungen gefunden. Bezüglich des Centralnervensystems und der peripherischen Nerven können wir nichts sagen, da sie vorläufig von uns nicht untersucht wurden.

Zur histologischen Untersuchung wurden die Organe in 5-proz. Formalin oder gesättigter Sublimatlösung mit Ac. aceticum fixiert. Es wurde eine Doppelfärbung angewandt — Hämatoxylin und Ziehl'sches Fuchsin (ca. 15 Minuten) — mit nachfolgender Behandlung mit 2-proz. Anilinchlorhydrat.

Die mikroskopische Untersuchung der Drüsen erwies folgendes:

Die Drüsenkapsel sowohl wie die Trabekel sind verdickt. In den Lymphsinus sind große Anhäufungen von protoplasmareichen Zellen von unregelmäßig polygonaler Form mit großem Kern bemerkbar; diese Zellen scheinen endothelialen Charakter zu tragen und sind etwas gequollen. Das Protoplasma der meisten Zellen enthält eine große Menge säurefester Stäbchen, so daß die Konturen des Zellkörpers häufig unsichtbar sind. Gewöhnlich liegen die Endothelzellen so nahe nebeneinander, daß Bacillenhäufchen in den einzelnen Zellen miteinander zusammenfließen und große, manchmal das ganze mikroskopische Gesichtsfeld einnehmende Anhäufungen bilden. Außer Endothelzellen kann man in jedem Drüsenschnitt einige Riesenzellen mit vielen, meistens peripherisch liegenden Kernen finden. Das Protoplasma der Riesenzellen enthält bedeutende Bacillenmengen. Viele Bacillen sind auch in den Bindegewebszellen der Kapsel eingeschlossen. In den Lymphocyten sind keine Bacillen gefunden worden. Außer in den Lymphsinus befinden sich die Bacillen auch in den Lymphfollikeln, aber in viel geringerer Menge.

Die beschriebenen Veränderungen der Lymphdrüsen entsprechen vollständig den Veränderungen bei Lepra. Auch hier wie bei der Lepra beobachten wir die Lokalisation des Prozesses hauptsächlich in den Lymphsinus, große Bacillenanhäufungen in den Endothel- und Riesenzellen und schließlich fast vollständiges Fehlen von degenerativen Veränderungen im Gewebe. In unserem Falle scheint eine Art Symbiose zwischen den Zellen und den Mikroben

zu existieren, die Mikroben vermehren sich unbehindert in der Zelle, ohne darin regressive Erscheinungen hervorzurufen.

II. Die hautmuskuläre Form (mit gleichzeitiger Beteiligung der Lymphdrüsen) wird seltener angetroffen und wurde von uns nur in 9 Fällen beobachtet. Vor allem fällt eine außerordentliche Kachexie in die Augen, welcher die von dieser Form ergriffenen Tiere anheimfallen. Bei der äußeren Untersuchung macht die Ratte den Eindruck einer wie von der Hautlepra ergriffenen. Die ganze Haut ist besät von weißlichen Herden verschiedener Größe, die manchmal bedeutende Dimensionen erreichen, so daß sie die ganze Hals- oder Brustgegend einnehmen können. Entsprechend den hellen Herden ist die Haut von spärlichen Haaren bedeckt oder ganz frei von denselben. Auf den ergriffenen Stellen kommen nicht selten knotenartige Erhebungen vor, einzelne Knötchen können Erbsengröße erreichen. Wo die Haut oft mechanischen Insulten ausgesetzt wird, wie z. B. auf der Brust, in der Gegend der Gelenke, sind die Knötchen ulceriert.

Außer der Haut werden ständig auch die subkutanen Lymphdrüsen in der bereits beschriebenen Form ergriffen.

Auf dem Durchschnitt ist die Haut im Bereiche der hellen Herde atrophisch, das Unterhautgewebe ist unsichtbar und unmittelbar unter der Haut liegt eine Schicht sehr veränderter Muskeln. Die ergriffenen Muskeln sind von weißlich-grauer Farbe, sehr schlaff, leicht zerreißbar. Die Erkrankung der Muskeln war dank ihrer weißlichen Farbe leicht bemerkbar und ging in die Tiefe manchmal 1 cm lang. Auf diese Weise erwiesen sich die Hautknoten als muskuläre Geschwülste, von atrophischer Haut bedeckt.

Die mikroskopische Untersuchung der erkrankten Hautstellen ergab folgende Veränderungen:

In der Hornschicht begegnet man wenigen Häufchen säurefester Stäbchen.

Stratum Malpighii ist kaum von dem Krankheitsprozeß betroffen. Hier und da sind in den Epithelzellen einzelne Stäbchen oder Anhäufungen derselben in Form von runden Kolonieen bemerkbar. In dem letzten Falle ist der Kern nach außen verdrängt, degeneriert manchmal und kann sogar gänzlich verschwinden. An einzelnen Stellen wird auch die Zelle zerstört und an ihrem Platz bildet sich eine Vakuole, die von einem runden Bacillenhaufen ausgefüllt ist.

Das Corium ist atrophisch, ödematös, von Granulationszellen mit rundem oder ovalem Kerne infiltriert. Besonders viele Granulationselemente befinden sich um die Gefäße. Die dichtfaserige Schicht der Cutis ist in ihrer ganzen Ausdehnung von einer großen Menge säurefester Stäbchen ausgefüllt. Die Stäbchen liegen selten frei, meistens sind sie in den Zellen des Granulationsgewebes eingeschlossen und bilden im Zusammenhang mit der Zellform runde oder ovale Kolonieen. Dank der bedeutenden Bakterienmenge ist es oft schwer, die Zellkonturen zu bestimmen. Große Bacillenanhäufungen befinden sich auch im Protoplasma der fixen Bindegewebszellen. Ueberhaupt werden einzelne Bacillen in den Zellen ziemlich selten angetroffen.

Das Unterhautgewebe ist von mit denselben Stäbchen vollgestopften Granulationszellen infiltriert. Die Zellelemente fügen sich meist in gänzliche Läppchen nebeneinander oder liegen in langen Reihen so eng nebeneinander, daß Bacillenhaufen der einzelnen Zellen zusammenfließen und das ganze Gesichtsfeld einnehmende Haufen bilden. In

solchen Haufen sind nur Zellkerne und Bacillen sichtbar. Bacillenanhäufungen werden voneinander durch Bindegewebszüge abgetrennt und entsprechen, wie es scheint, den Fettläppchen des Unterhautgewebes. Fettgewebe ist nirgends zu sehen, es ist von Granulationsgewebe und Bacillen verdrängt.

Zwischen den Granulationszellen sowohl im Corium als im Unterhautgewebe begegnet man vielen bedeutend größeren, protoplasmareichen und große Bacillenanhäufungen enthaltenden Zellen. Diese Zellen sind sehr den von Virchow beschriebenen Leprazellen ähnlich, enthalten aber keine Vakuolen.

Außer den aufgezählten Zellelementen sowohl in der Haut als im Unterhautgewebe begegnet man unregelmäßig polygonalen, protoplasmareichen Zellen mit großem Kerne von epithelioidem Typus. Das Protoplasma der meisten dieser Zellen enthält eine Menge Bacillen.

Die Blutgefäße der Haut stellen keine besonderen Veränderungen dar, nur an einzelnen Stellen macht sich eine Schwellung des Endothels bemerkbar; selten werden an dem Gefäßdurchschnitt Endothelzellen angetroffen, welche einzelne Bacillen enthalten.



Fig. 6.

In den Lymphspalten der Haut werden Bacillen in geringerer Menge gefunden.

Alle beschriebenen Veränderungen der Haut erinnern sehr an das Bild, welches wir bei der sogenannten diffusen leprösen Infiltration beobachten (Babes [12]). In unseren Fällen finden wir im Bindegewebsteile der Haut Granulationsgewebe mit runden Elementen und Leprazellen und eine bedeutende Bacillenmenge. Die Bacillen sind meistens intracellulär eingeschlossen, die Hauptmasse derselben befindet sich in der Cutis; in der Hornschicht und im Stratum Malpighii sind wenig Bacillen vorhanden. Die regressiven Erscheinungen sind im Gewebe sehr schwach ausgesprochen, nur in einzelnen Zellen begegnet man degenerativen Veränderungen. Fast ein eben solches Bild finden wir bei der leprösen Erkrankung der Haut mit dem Unterschiede, daß wir bei Lepra keine so kolossale Menge Bacillen im Gewebe wie in unseren Fällen beobachten.

Was die Erkrankung der Muskeln bei der beschriebenen Krankheitsform anbetrifft, so beginnt sie schon an dem M. subcutaneus und

ergreift oft auch bedeutende Tiefen der Skelettmuskeln. M. subcutaneus, sowie die tiefer unter ihm liegenden Skelettmuskeln sind sehr verändert. Nur selten kann man in dem Unterhautmuskel eine wenig veränderte Faser finden, welche ermöglicht, die Art und Weise, wie der Prozeß beginnt, sich ziemlich leicht vorzustellen. Der Prozeß scheint derart zu beginnen, daß in der Umgebung der Muskelkerne sich Bacillenanhäufungen bilden; die Muskelfaser ist zu dieser Zeit bereits trübe, verliert ihre Querstreifung. Die Bacillenanhäufungen werden immer größer, die Muskelfaser zerfällt und an ihrer Stelle bleiben nur von großen Bacillenhaufen umgebene Muskelkerne. In allen von uns bisher untersuchten Fällen war der M. subcutaneus vollständig degeneriert, statt Muskelfasern sahen wir nur von großen Bacillenhaufen umgebene Kerne.

Stellenweise kann man inmitten dieses Muskelzerfalles Leukocytenanhäufungen begegnen, welche von säurefesten Stäbchen vollgestopft sind. Die Leukocyteninfiltration kann in den Skelettmuskeln manchmal bedeutende Größe erreichen, z. B. erbsengroß werden, und bildet auf diese Weise echte Muskelabscesse.

Indem wir zur Beschreibung der morphologischen und biologischen Eigenschaften des Krankheitserregers übergehen, müssen wir die Bemerkung vorausschicken, daß die Beschreibung nur eine unvollständige sein wird, da es uns nicht gelang, Kulturen zu erhalten. Der gefundene Mikrobe stellt sich als ein Stäbchen mit leicht abgerundeten Enden, 3—5 $\mu$ lang, dar. Die Stäbchen sind manchmal etwas gekrümmt, bei der Färbung nehmen sie oft ein körniges Aussehen an. Wie bei der Lepra gelingt die Färbung nur bei Anwendung von stark färbenden Lösungen, z. B. Karbolfuchsin; diese Lösung färbt innerhalb 15 Minuten, bei der Erwärmung schon nach wenigen Sekunden. Das Stäbchen läßt sich schwer entfärben, 5-proz. Schwefelsäure und 95-proz. Alkohol entfärben sie sogar nach 5 Minuten nicht. Es färbt sich gut nach Kühne-Borrel (13), ebenso nach Gram.

Bezüglich der Kultur auf künstlichen Nährböden kann ich nur wenig sagen, da zu unserer Verfügung nur unfrisches Material stand und die Aussaaten dank dessen von anderen Mikroben reich durchwachsen wurden. Nur in einem Falle wurde zu Kulturen frisches Material aus krankhaft veränderten Lymphdrüsen einer getöteten Ratte benutzt. Leider sind die Aussaaten auf den uns zur Zeit zur Verfügung stehenden Nährböden (Agar, 5-proz. Glycerinbouillon und 5-proz. Glycerinochsenserum) steril geblieben.

Die Impfungen an Tieren fielen negativ aus. Wir spritzten subkutan Meerschweinchen, weißen Ratten und Wanderratten 4—5 ccm einer dicken Emulsion aus große Mengen Bacillen enthaltenden Organen ein. Nach 3—4 Tagen resorbierte sich die Flüssigkeit spurlos, die Tiere äußerten keine Krankheitssymptome und nach 1—2 Monaten konnte man in den Organen keine Bacillen finden.

Bei der Infektion derselben Tiere in die Bauchhöhle sogar mit bedeutenden Bacillenmengen waren die Ergebnisse dieselben. Nur in einem Falle sind bei einer intraperitoneal infizierten und nach 44 Tagen getöteten weißen Ratte einige Veränderungen gefunden worden. Das große Netz war vergrößert, sklerosiert und enthielt eine eitrige Höhle. Im Eiter wurden viele säurefeste Stäbchen gefunden. Wenige einzelne Stäbchen sind in der Milz, in den beiderseitigen Inguinaldrüsen und in einer vergrößerten Mesenterialdrüse gefunden worden. Die peritoneale

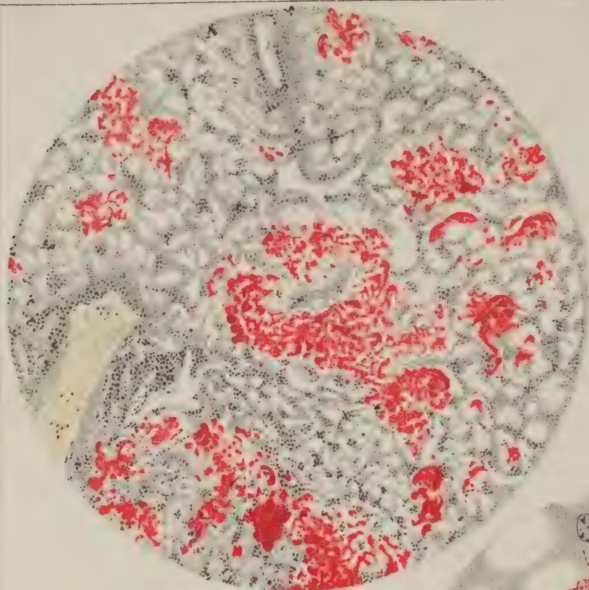


Fig. 1.

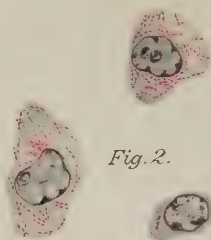


Fig. 2.

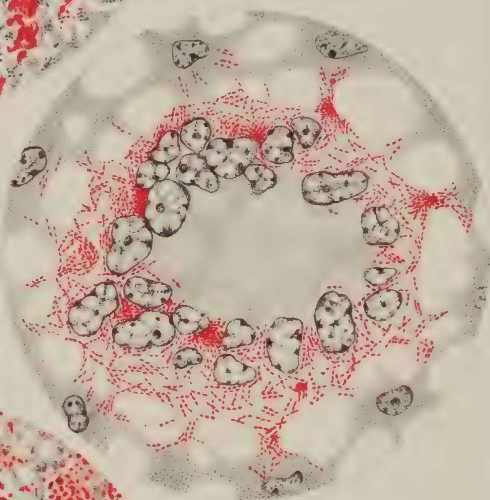
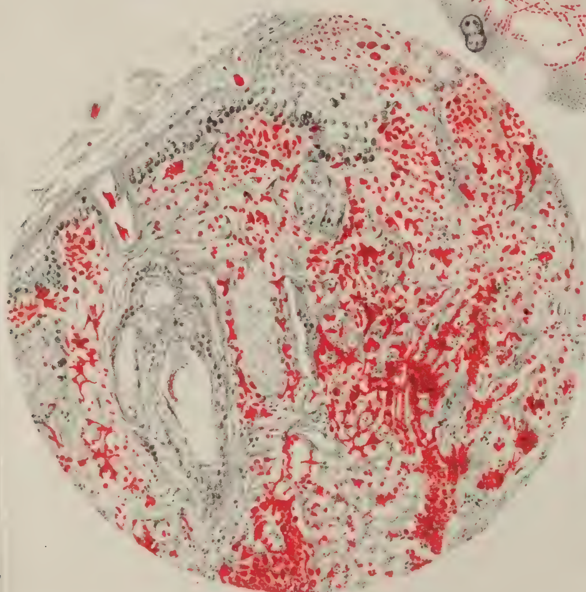


Fig. 3.

Fig. 4.



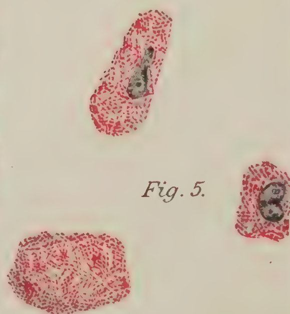


Fig. 5.

Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Infektion von einigen Wanderratten und weißen Ratten mit dem Eiter des Netzes ergab kein positives Resultat.

Zur Zeit stehen unter der Beobachtung einige weiße Ratten und Wanderratten; einige von ihnen wurden mittels der Einreibung in die blutig rasierte Haut, andere wurden mittels Skarifikation mit den Organemulsionen infiziert. Wir konnten vorläufig keine krankhaften Veränderungen konstatieren.

Aus allem oben Gesagten schließen wir, daß die von uns sowohl in der Haut als in den Lymphdrüsen gefundenen Veränderungen viel Gemeinsames mit denen bei Lepra haben. Die große Bacillenmenge, ihre Gruppierung in den Geweben, ihr Sitz in den Zellelementen in Form von großen Anhäufungen, die Infiltration des Gewebes mit Granulationselementen, schließlich die unbedeutenden degenerativen Veränderungen der Gewebe, das alles erinnert ganz an das Bild, welches wir bei Lepra beobachten, besonders in frühen Stadien. Sehr eigentümlich erscheinen die Veränderungen in den Hautmuskeln und Skelettmuskeln, welche, soweit mir bekannt ist, bisher in der Pathologie noch nicht beschrieben sind. Auf Grund der Thatsache, daß die degenerativen Veränderungen am stärksten in den Muskeln ausgesprochen sind, daß in denselben die größte Bacillenmenge sich befindet, kann man denken, daß der Prozeß sich zuerst in den Muskeln lokalisiert und von diesen aus in das Unterhautgewebe und in die Haut übergreift.

Am Schlusse dieser Arbeit erfülle ich eine angenehme Pflicht, indem ich Herrn Dr. Chenzinsky meinen Dank für die besondere Liebenswürdigkeit ausspreche, mit der er mir bei diesen Untersuchungen mit Rat beistand.

---

**Litteratur.**

1) Mironescu, Ueber das Vorkommen von tuberkelbacillenähnlichen Bakterien in menschlichen Faeces. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII.)
2) Moeller, Ueber säurefeste Bakterien. (Deutsche med. Wochenschr. No. 26. 1902.)
3) — —, Ibidem.
4) Rabinowitsch, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVI.)
5) Petri, Zum Nachweis der Tuberkelbacillen in Butter und Milch. (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt. Bd. XIV. 1898.)
6) Moeller, Ueber säurefeste Bakterien. (Deutsche med. Wochenschr. No. 27. 1902.)
7) Hölscher, Experimentelle Untersuchungen mit säurefesten, tuberkelbacillenähnlichen Spaltpilzen. (Arb. a. d. G. d. path. Anat. von Baumgarten. Bd. IV.)
8) Lubarsch, Zur Kenntnis der Strahlenpilze. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI.)
9) — —, Ibidem.
10) Nicolle, Note sur la bactériologie de la Verruga du Pérou. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898.)
11) Letulle, Soc. de Biologie. 1898. (Citiert nach Nicolle.)
12) Babes, Untersuchungen über den Leprabacillus. 1898.
13) Borrel, Tuberculose pulmonaire expérimentale. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1893.)

**Erklärung der Abbildungen.**

Fig. 1. Schnitt durch die subkutane Lymphdrüse. Bacillenhaufen. Vergr. 60.
Fig. 2. Endothelzellen aus der Lymphdrüse mit Bacillen im Innern. Vergr. 750.
Fig. 3. Riesenzelle aus der Lymphdrüse mit zahlreichen Bacillen. Vergr. 750.
Fig. 4. Schnitt durch die Haut. Zellige Infiltration und Bacillenhaufen im Corium und Panniculus adiposus. Vergr. 60.
Fig. 5. Leprazellen (?) der Cutis, ganz vollgepfropft mit Bacillen. Ein Haufen von Bacillen, frei in der Cutis liegend. Vergr. 750.
Fig. 6. Eine Wanderratte mit hautdrüsiger Form der Krankheit.

---

# Ein neuer pathogener Mikrobe, zur Gruppe der Diphtheriebacillen gehörig = Bacterium muris.

Von **E. Klein** in London.

Der Mikrobe, den ich mir hier zu beschreiben erlaube, entstammt der hepatisierten Lunge der weißen Ratte und ist in morphologischer und kultureller Beziehung dem wahren Diphtheriebacillus verwandt.

Von 2 ausgewachsenen Ratten, seit Wochen im Käfig im Laboratorium, erkrankte die eine spontan und ging mehrere Tage darauf ein. Bei der Sektion zeigte sich die eine Lunge fast im ganzen Umfange hepatisiert, die andere Lunge mehrere graue Plaques, in beiden Lungen Ecchymosen; Milz und Leber hyperämisch, der Dünndarm stark injiziert, viel Gasblasen und blutigen Schleim enthaltend.

Ausstrichpräparate der entzündeten Lungenpartieen zeigten reichlich kleinere und größere Ballen cylindrischer bis fädiger Stäbchen, die in den mit Methylenblau gefärbten Präparaten ausgesprochenen Metachromatismus zeigten.

Wie Schnitte durch die gehärteten Lungen zeigten, waren die erkrankten Partieen (fibrinöses Exsudat viel Rundzellen und rote Blutkörperchen einschließend) mit fast konfluierenden Ballen und zusammenhängenden Massen obiger Bacillen durchsetzt. Kulturen mit Spuren des entzündeten Lungengewebes lieferten Reinkulturen des obigen Mikroben, ebenso das Herzblut.

Die zweite Ratte ging 18 Tage später ein und zeigte genau dasselbe pathologische Bild und denselben Bakterienbefund.

Der Mikrobe ist in seinem Färbungsvermögen, seiner Morphologie und in der Kultur in den verschiedenen Medien dem Klebs-Loefflerschen Bacillus sehr nahe verwandt; er färbt sich gut in Gram, gibt Neisser-Färbung positiv. Er zeigt ausgesprochenen Metachromatismus in Methylenblaufärbung, viele der Stäbchen enthalten in diesen Präparaten schöne rote Kügelchen. Er bildet deutlich Säure in Zuckerbouillon.

Der Mikrobe ist pathogen für Ratten und Meerschweinchen, doch ist es bis jetzt nicht gelungen, eine Allgemeininfektion mit tödlichem Ausgang bei diesen Tieren zu erzeugen.

Gleichviel, ob kleine oder große Dosen der Kultur subkutan injiziert werden, das Resultat ist immer nur lokal, es bildet sich in wenigen Tagen eine harte Geschwulst, die sich allmählich vergrößert und in 10—14 Tagen eine ganz ansehnliche Größe erreicht. Dann wird entweder der ganze Prozeß rückgängig oder es bildet sich aus der Geschwulst ein mit dickem Eiter erfüllter Absceß heraus. In allen Fällen folgte eventuell vollkommene Heilung. Solange der Krankheitsprozeß dauert, sind die Bacillen leicht und reichlich in Deckglaspräparaten und durch die Kultur nachzuweisen.

Das (verläßliche) Diphtherieantitoxin ist nicht im stande, die Wirkung unserer Mikroben zu neutralisieren. Meerschweinchen wurden mit einem Gemenge von Kultur (kleine Dosis) und 400 und selbst 600 Einheiten des Diphtherieantitoxins (pro Tier) subkutan injiziert, während Kontrolltiere nur dieselbe Dosis derselben Kultur injiziert erhielten.

Das Resultat war in beiden Reihen genau dasselbe, nämlich die Entwickelung des Tumors. Es ist hiernach klar, daß unser Mikrobe nicht etwa als eine abgeschwächte Varietät des wahren Diphtheriebacillus betrachtet werden kann.

Außerdem ist ja bekannt, daß ausgewachsene weiße Ratten selbst gegen die hochvirulenten Diphtheriebacillen refraktär sind. Ich schlage für unseren Mikroben die Bezeichnung Bacterium muris vor.

---



# Ueber die Lebensdauer von Typhusbacillen, die im Stuhle entleert wurden.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Straßburg.]

Von Prof. **E. Levy** und Dr. **Heinrich Kayser.**

Der Abdominaltyphus zählt in den meisten mitteleuropäischen Ländern zu den endemischen, jahraus jahrein vorkommenden Krankheiten. Die Zahl der Typhusfälle hat sich ja entschieden dank der Beschaffung von gutem Trinkwasser und der Einführung eines geregelten Abfuhrwesens in den Städten vermindert. Nichtsdestoweniger sind wir noch weit von dem erstrebenswerten Ziele entfernt, diese doch immerhin vermeidbare Krankheit ganz und gar zurückzudrängen. Es war als ein großer Fortschritt zu bezeichnen, daß man als die Ursache der explosionsartig auftretenden großen oder kleinen Epidemieen bereits in der vorbakteriologischen Aera durch eine genaue epidemiologische Beobachtung das Trinkwasser kennen lernte. Man hat aber dann entschieden eine Zeit lang die übrigen Verbreitungswege des Typhusvirus stark vernachlässigt, und erst jetzt wieder beginnt man sich deren Studium energisch zuzuwenden. Wir müssen eben zu ergründen suchen, wie die endemischen, immer wieder an vereinzelten Orten sich zeigenden Typhuserkrankungen entstehen. Denn auf die Bekämpfung dieser Herde kommt es ja gerade an, wenn wir der Seuche Herr werden wollen. Die epidemiologischen Tatsachen zwingen uns zu der Annahme, daß die Typhusbacillen außerhalb des menschlichen Organismus sich lange Zeit, viele Monate, ja sogar höchst wahrscheinlich viele Jahre hindurch lebensfähig und infektionstüchtig erhalten können. Man darf also mit Recht den Satz aufstellen, daß es in letzter Instanz die biologischen Eigenschaften des Typhusbacillus sind, welche die Epidemiologie des Typhus abdominalis beherrschen. Von jeher wurde nächst dem Wasser der durch Typhusfaeces verunreinigte Boden als der Vermittelung von Infektionen verdächtig angesehen. Man hat sich infolge dessen mehrfach bemüht, durch Laboratoriumsexperimente zu ergründen, wie lange die Typhuserreger in den Faeces und im Boden am Leben bleiben. So dankenswerte Resultate diese Versuche, welche wir im folgenden besprechen wollen, ergeben haben, es läßt sich doch immer ihnen gegenüber der Einwand erheben, daß man sie nicht ohne weiteres auf die in der Natur vorkommenden Verhältnisse übertragen darf. Wir vermochten nun in einem Falle die Schicksale von Typhusbacillen, die aus dem Darme eines Typhuskranken in eine Dunggrube und von dort in einen Garten gelangt sind, zu verfolgen und möchten nach einer kurzen Literaturangabe über unsere Befunde berichten.

Grancher und Deschamps[1]) sind wohl als die ersten der experimentellen Lösung der Frage näher getreten, wie lange die Typhusbacillen sich lebensfähig im Boden erhalten können. Sie übertrugen Typhusbacillen auf die Oberfläche eines Bodens, den sie häufig mit Wasser begossen und zeigten, daß diese Mikroorganismen bis auf 50 cm Tiefe eindrangen und daß sie $5^1/_2$ Monate lang am Leben blieben. Allerdings darf sowohl für diese wie auch für einen Teil der folgenden Untersuchungen nicht verschwiegen werden, daß die damaligen Methoden zum Nachweis der Typhusbacillen nicht ganz einwandsfrei waren. Wir wollen und dürfen jedoch hieraus den Autoren selbstverständlich keinen Vorwurf machen. Uffelmann[2]) hat sich zu derselben Zeit mit der Dauer der Lebensfähigkeit der Typhusbacillen in Fäkalmassen beschäftigt. Er kommt zu dem Resultat, daß diese Mikrobien inmitten sich zersetzender Fäkalien eine große Widerstandskraft aufweisen. Vier Monate fand er sie so lebensfähig und er nimmt an, daß diese Zeitdauer nicht die äußerste Grenze darstelle. Merkwürdig erscheint die Angabe von Uffelmann, daß bei höherer Temperatur die Lebensdauer länger ausfällt als bei niederer; er führt dies auf eine eintretende Vermehrung der Typhusstäbchen zurück. Ungefähr gleichzeitig mit Uffelmann hatte auch Karlinski[3]) das Verhalten der Typhusbacillen in typhösen Dejektionen studiert; er fand, daß die Lebensfähigkeit von aus Darminhalt stammenden und Senkgrubeninhalt beigemischten Typhusbacillen erheblich kürzer sei, als dies Uffelmann angegeben. Auch die Untersuchungen von Schiller[4]), die auf Anregung von Gaffky angestellt wurden, führten zu wesentlich anderen Ergebnissen. In den Kotgemischen, welche über 16° gehalten waren, kam es schnell innerhalb der ersten Woche zu einer Ueberwucherung durch die Kotbakterien. Bei niederen Temperaturen hielten sich die Typhusbacillen länger; in einem Gemisch, das stets einer Temperatur unter 12° Grad ausgesetzt war, bis zum Ende der 4. Woche. Karlinski[5]) stellte dann weitere sehr ausgedehnte Experimente über das Verhalten der Typhusbacillen im Boden an. Nach ihm beträgt die längste Lebensdauer der Typhuserreger im Boden drei Monate. Wurden an Stelle von Reinkulturen Typhusbacillen mit typhösem Kote in Erde eingeführt, so fiel die Lebensdauer erheblich kürzer aus, welche Erscheinung Karlinski auf die Tätigkeit der gleichzeitig zugesetzten Kotbakterien zurückführte. Auf der Erdoberfläche gehalten, gingen die Typhusbacillen unter dem Einfluß der Belichtung und der Befeuchtung bald zu Grunde. In den Organen begrabener Typhusleichen ließen sich die spezifischen Stäbchen bei verzögerter Fäulnis noch nach 3 Monaten auffinden. Gärtner[6]), der das Absterben von Krankheitserregern in Mist und Kompost einer sorgfältigen Untersuchung

1) Grancher und Deschamps, Recherches sur le bacille typhique dans le sol. (Arch de médecine expériment. et d'anatom. patholog. 1889.)

2) Uffelmann, Die Dauer der Lebensfähigkeit von Typhus- und Cholerabacillen in Fäkalmassen. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. V. 1889. No. 15 u. 16.)

3) Karlinski, Untersuchungen über das Verhalten der Typhusbacillen in typhösen Dejektionen. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VI. No. 3.)

4) Schiller, Zum Verhalten der Erreger der Cholera und des Unterleibstyphus in dem Inhalt der Abtrittsgruben und Abwässer. (Arbeiten aus dem K. Gesundheitsamt. Bd. VI. 1890.)

5) Karlinski, Untersuchungen über das Verhalten von Typhusbacillen im Boden. (Archiv f. Hygiene. Bd. XIII. 1891.)

6) Gärtner, Ueber das Absterben von Krankheitserregern in Mist und Kompost. (Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankkeiten. Bd. XXVIII.)

unterzog, konstatiert, daß Typhusbacillen sich mehr als eine Woche in Mist und Kot zu halten vermögen; seine Versuche beweisen, daß das Leben im Kot ein kurzes sein kann, aber er betont wiederholt, daß dies Ueberleben nicht ein kurzes zu sein braucht.

Eingehend hat sich Sidney Martin[1]) mit dem Fortkommen des Typhusbacillus im Boden beschäftigt. Er kam schließlich zu dem Resultat, daß in sterilisierten Bodenproben, die bebautem Feld entnommen waren, die Typhuserreger noch nach 456 Tagen sich als lebensfähig erwiesen und daß sie außerdem sich über und durch die ganze Probe verbreitet hatten. Die Austrocknung des Bodens war in diesen Experimenten hintangehalten; dabei hat er verschiedene Temperaturgrade herangezogen, Brutwärme sowohl als auch die mittleren, im Freien herrschenden Hitzegrade. Benützte Martin diese selben Bodenarten unsterilisiert, so vermochte er aus ihnen die eingesäten Typhusbacillen längstens nach 50 Tagen wieder herauszuzüchten. Verwendete er dagegen sandige und torfige jungfräuliche Bodenarten, so starben die Typhusstäbchen sehr bald. Robertson[2]) infizierte Ackererde mit Typhusbacillen und fand dieselben nach 3—4$^1/_2$ Monaten wieder, bei einem späteren Versuch sogar nach 11 Monaten.

Angeregt durch die oben erwähnten Veröffentlichungen, arbeitete Rullmann[3]) im wesentlichen auf derselben Grundlage wie Sidney Martin. Er versetzte seine Erdproben (Humus zu gleichen Teilen mit feinkörnigem Kies vermischt) mit verschiedenartigen Zusätzen und ließ sie zum Teil sterilisiert, zum Teil unsterilisiert im Zimmer bei diffusem Tageslicht stehen. Trotzdem Gefäße mit wesentlich größerem Durchmesser als bei Martin gewählt wurden — Bodenfläche 18 cm — zeigten sich nach Monatsfrist in den sterilisierten Erden die Typhusbacillen überall hin verbreitet. In einer Probe waren diese Mikroorganismen 9, in einer anderen 16 Monate mit Sicherheit nachzuweisen. Fast ein Jahr dauerte die Haltbarkeit in den mit sterilisierten Fehlböden (hauptsächlich roter Flußsand) angelegten Kulturen. Bei den unsterilisierten Proben von Humus und Feinkies war eine rasche Vernichtung der Typhusbacillen zu konstatieren. In der nicht sterilisierten Fehlbodenerde ließen sie sich dagegen noch nach 100 Tagen auffinden. Diese abweichenden Resultate erklärt Rullmann, wenn auch nicht ganz, so doch der Hauptsache nach, aus dem chemischen Einfluß der verschiedenartig zusammengesetzten Erden.

E. Pfuhl[4]), der vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit der Ruhr- und der Typhusbacillen außerhalb des menschlichen Körpers anstellte, zog für die Typhusdiagnose die Lackmus-Milchzucker-Nutrose-Kristallviolett-Agarplatten, welche v. Drigalski und Conradi[5]) auf Anregung von Robert Koch eingeführt haben, und die Agglutinationsprobe heran. In Gartenerde, die aus Sand, verrottetem Laub und Kuh-

---

1) Martin, S., Report on the growth of the typhoid bacillus in soil. (Report of med. Officer of the Local Gov. Board. 97/98.)

2) Robertson, Notes on an experimental investigation into the growth of bacillus typhosus in sol. (British med. Journal. 1898.)

3) Rullmann, W., Ueber das Verhalten des in Erdboden eingesäten Typhusbacillus. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XXX. 1901. No. 8.)

4) Pfuhl, E., Vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit der Ruhrbacillen und der Typhusbacillen außerhalb des menschlichen Körpers. (Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. XL. 1902.)

5) v. Drigalski und Conradi, Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXIX. 1902.)

dünger bestand, hielten sich die Typhusbacillen nahezu 3 Monate lang und zwar dicht unter der Oberfläche der Erdprobe. Diese stand gut beleuchtet auf dem Dachboden, bei einer Temperatur, die zwischen 1,5° und 21° schwankte. Durch Nachgießen von sterilisiertem Wasser wurde die Austrocknung verhütet. In lockerem, trockenem Sande blieben die Typhusbacillen 28 Tage lebensfähig (diese Proben standen im geheizten Zimmer in einem offenen Regal an der Fensterwand).

Vermögen die auf und in der Ackererde befindlichen Mikroorganismen auf der Oberfläche der in diesem Boden gewachsenen Pflanzen zu erscheinen? Mit dieser Frage beschäftigen sich die experimentellen Untersuchungen von Wurtz und Bourges[1]) Sie konstatierten, daß pathogene Mikrobien, die auf die Oberfläche von Ackererde gebracht oder 10 cm tief vergraben worden waren, an den Blättern und Stengeln der dort zur Entwickelung gekommenen Pflanzen sich nachweisen ließen, eine Tatsache, welche man für den Tetanuskeim ja bereits kannte. Wenn auch die baktericide Kraft der Sonnenstrahlen und das Abwaschen durch die Regengüsse hier wohl mit in Rechnung zu ziehen sind, so bleibt es doch nach Wurtz und Bourges erwiesen, daß Infektionen auf die geschilderte Weise zustande kommen können.

Alle die angeführten Laboratoriumsexperimente haben wichtige Resultate in Bezug auf die Biologie des Typhusbacillus gezeitigt und wir sind gewiß berechtigt, bindende Schlüsse aus ihnen für das Verhalten der Typhuserreger außerhalb des menschlichen Körpers zu ziehen. Es ist jedoch ohne weiteres einleuchtend, daß für die Erforschung der Aetiologie des Typus das Bedeutsamste bleibt, nachzuspüren, wie sich der Typhusbacillus, nachdem er den Darm der Patienten verlassen, unter ganz natürlichen Verhältnissen, d. h. ohne jede experimentelle Beihilfe, benimmt. Wie schon eingangs erwähnt, verfügen wir über eine derartige höchst interessante und lehrreiche Beobachtung.

Herr B. kam am 8. September 1901 abends unwohl von seiner Ferienreise nach Schiltigheim, einem Vororte von Straßburg, zurück. Am 13. erst zog er seinen Arzt, Herrn Dr. Sorgius, zu, welcher, da er Verdacht auf Typhus hegte, sofort die Desinfektion der Stühle anordnete. Am 15. September wurde wegen schwerer typhöser Erscheinungen die Ueberführung des Patienten in das Straßburger Diakonissenhaus bewerkstelligt. Die Faeces waren regelmaßig in die Abtrittsgrube entleert worden. Dieselbe ist wasserdicht zementiert. Undesinfiziert kamen die Stühle vom 8. September abends bis 13. September nachmittags in die Grube. Am 6. Februar 1902 fand die Entleerung der Latrine stand, und die Fäkalien wurden zum Düngen auf den beim Anwesen gelegenen Garten gegossen. Herr Dr. Sorgius hatte uns über diese Sachlage Bericht erstattet und auf unsere Bitte übermittelte er uns am 20. Februar in liebenswürdiger Weise eine Probe der so gedüngten Gartenerde. Wir verfehlen nicht, auch an dieser Stelle Herrn Kollegen Sorgius für seine Mühewaltung unseren verbindlichsten Dank auszusprechen.

Die Erde war bei Ankunft schmierig naß. Wir verrieben mehrere linsengroße Stückchen mit je 10 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung und fertigten genau nach Vorschrift 15 Platten nach der Drigalski-Conradischen Methode an. Außerdem gossen wir mit unserer Erdaufschwemmung in der gewöhnlichen Weise 20 Gelatineplatten mit

1) Wurtz und Bourges, Sur la présence de microbes pathogènes à la surface des feuilles etc. (Archives de médec. expérim. T. XIII. 1901.)

den üblichen Verdünnungen. Wir verbrachten sämtliche Platten in Büchsen in den Institutskeller in eine Temperatur von 12°. Bei Untersuchung von Erdproben auf pathogene Keime wendet E. Levy schon seit geraumer Zeit diese Methode an. Man vermeidet nämlich so am einfachsten das Ueberwuchern von Vertretern der Futter- und Heubacillengruppe, deren Sporen ja, wie Flügge zuerst gezeigt, bei diesen niederen Temperaturen nicht auskeimen. Die Agarplatten nach Drigalski und Conradi lassen sich, wir wir uns durch Kontrollversuche überzeugten, bei dieser Versuchsanordnung gleichfalls verwenden. Nach 10 Tagen begannen wir mit der Prüfung unserer Platten; wir ernteten auf sämtlichen zahlreiche Coli, dann die verschiedenartigsten, meist farbstoffbildenden Kokken, den Bacillus fluorescens liquefaciens und non liquefaciens in vielen Exemplaren. Auf den Platten nach Drigalski und Conradi sahen wir keine einzige Kolonie, die auf Typhus verdächtig war. Auf einer Gelatineplatte bekamen wir dagegen 2 Kolonieen, die überaus zart und mit gelapptem Rand versehen waren, deutlich irisierten und bei der Untersuchung mit schwacher Vergrößerung das silberglänzende Aussehen und das zierliche Furchenliniennetz zu erkennen gaben. Diese Kolonieen fielen, um dies nochmals zu betonen, dadurch auf, daß sie gegenüber den zahlreichen Coli-Kolonien viel diskreter gewachsen waren. Wir impften von beiden ab und selbstverständlich noch von einer ganzen Reihe anderer coliähnlicher Kolonieen. Aber bereits der nächste Tag brachte für uns das Resultat, daß, abgesehen von den beiden zarten Kolonieen die übrigen alle als Coli zu eliminieren waren, denn sie hatten ohne Ausnahme im hohen Traubenzuckeragarstich Gärung veranlaßt. Die beiden mehrfach genannten Kolonieen bestanden aus lebhaft beweglichen Stäbchen. Sie boten, um uns kurz zu fassen, alle mikroskopischen und kulturellen Merkmale des Typhusbacillus dar. Sie wuchsen auf Lackmusmolke, auf dem Agar nach Drigalski und Conradi und, worauf wir sehr viel Gewicht legen[1]), in der Rothbergerschen Neutralrotagarkultur in charakteristischer Weise. Für die Agglutinationsprobe hatten wir ein sehr hochwertiges Serum zur Verfügung. Dasselbe agglutinierte die gefundenen Stäbchen makroskopisch noch rasch beim Verhältnis 1:5000. Zur Kontrolle benutzten wir alle unsere Institutsstämme und bekamen bei ihnen genau dieselbe makroskopische Agglutinationsgrenze. Wir sind also nach dem heutigen Standpunkt der Wissenschaft vollauf berechtigt zu sagen, daß wir in der uns übersandten Gartenerde richtige Typhusbacillen nachgewiesen haben.

Der Garten, welchem unsere Erde entnommen war, lag nach Süden, an einer Stelle, von welcher überschüssiges Wasser bequem abzufließen vermochte. Die Erde war mit einem gewöhnlichen Gartenspatel oberflächlich angestochen worden.

Es war nun sehr wichtig, die meteorologischen Verhältnisse kennen zu lernen, die vom 6.—20. Februar 1902 herrschten. Am 6. hatte ja die Düngung, am 20. die Probeentnahme stattgefunden. Herr Prof. Dr. Hergesell, Direktor des meteorologischen Landesdienstes in Elsaß-Lothringen, hatte die Liebenswürdigkeit, uns die betreffenden Daten mitzuteilen. Wir sind ihm hierfür zu großem Dank verpflichtet.

Die Temperaturgegensätze von Straßburg i. E. betrugen an den einzelnen Tagen:

---

1) Vergl. H. Kayser, Das Wachstum der zwischen B. typhi und coli stehenden Spaltpilze etc. (Centralbl. f. Bakter. u. P. Abtlg. I. Bd. XXXI. 1902.

| Februar Tage | Lufttemperatur Minimum | Lufttemperatur Maximum | Erdbodentemperaturen: an der Erdoberfläche 7a. | 2p. | 6p. | in 15 cm Tiefe 7a. | 2p. | 6p. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6. | — 4,5 | 6,6 | 0,0 | 0.0 | 0,0 | 0,4 | 0,4 | 0,3 |
| 7. | 6,6 | 11,6 | 0,2 | 0,4 | 0,5 | 0,2 | 0,6 | 0,7 |
| 8. | 3,3 | 9,6 | 4,2 | 4,2 | 4,0 | 2,4 | 3,0 | 3,0 |
| 9. | 1,3 | 7,3 | 3,2 | 4,0 | 3,0 | 2,8 | 3,0 | 3,0 |
| 10. | 0,4 | 6,6 | 2,0 | 3,6 | 3,0 | 2,6 | 2,6 | 2,7 |
| 11. | — 2,1 | 4,0 | 1,6 | 3,2 | 2,3 | 2,2 | 1,8 | 1,6 |
| 12. | — 4,3 | 3,0 | 0,4 | 0,2 | 0,2 | 1,0 | 1,0 | 1,2 |
| 13. | — 1,4 | 1,0 | 0,4 | 0,2 | 0,3 | 0,8 | 1,0 | 1,0 |
| 14. | — 2,6 | 0,0 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,6 | 0,8 | 0,7 |
| 15. | — 4,1 | — 1,1 | 0,0 | 0,2 | 0,0 | 0,6 | 0,5 | 0,5 |
| 16. | — 5,4 | — 1,2 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,5 | 0,6 | 0,6 |
| 17. | — 2,3 | 1,7 | 0,0 | 0,1 | 0,2 | 0,6 | 0,6 | 0,6 |
| 18. | — 2.2 | 3,2 | 0,0 | 0,2 | 0,2 | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| 19. | — 0,1 | 3,0 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,4 | 0,5 | 0,6 |
| 20. | 1,3 | 7,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,5 | 0,4 | 0,5 |

Vom 6.—10. Februar fiel häufig Niederschlag, teils als Regen und Schnee, teils als Graupeln. Nachdem am 11. und 12. kein Niederschlag gefallen war, fiel vom 13. bis 15. Schnee, ebenso am 18. und 19.; die übrigen Tage waren niederschlagsfrei.

Die Lufttemperaturen schwankten also zwischen minus 5,4 und plus 11,6, die Erdbodentemperaturen an der Oberfläche zwischen 0 und + 4,2, in 15 cm Tiefe zwischen + 0,2 und + 3.

Wir haben wiederholt darauf aufmerksam gemacht, daß die physikalische und chemische Beschaffenheit des Bodens einen großen Einfluß auf die Vitalität der Typhuserreger, welche er birgt, ausübt. Es war deshalb in unserem Falle angezeigt, die Gartenerde auch nach diesen Richtungen hin zu untersuchen. Wir bestimmten zunächst den Wassergehalt der lufttrockenen Erde. 1000 g wogen bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet 930 g. Das Porenvolumen durch Wasserverdrängung ermittelt, betrug 28 Proz. 500 g Erde, bei 100° getrocknet, wurden vermittelst des Siebsatzes nach Knop verarbeitet.

| | | |
|---|---|---|
| I. | Grobkies mehr als 7 mm Durchmesser | 0 Proz. |
| II. | Mittelkies feiner als 7 mm gröber als 4 mm | 7 „ |
| III. | Grobsand feiner als 2 mm gröber als 1 mm | 37 „ |
| IV. | Mittelsand feiner als 1 mm gröber als 0,3 mm | 6 „ |
| V. | Feinsand feiner als 0,3 mm | 50 „ |

Es handelt sich also der Hauptsache nach um einen feinkörnigen Boden. Von vornherein war zu erwarten, daß unsere Gartenerdeprobe als stark verunreinigt sich erweisen würde. Wir bestimmten den organischen Stickstoff nach der Methode von Kjeldahl und erhielten für 1 Kilo lufttrockene Erde 2856 Milligramm. Fodor[1]) fand als Mittel bei 40 stark verunreinigten Bodenproben 1132 mg org. N. Sein stärkst verunreinigter Boden enthielt 2437 mg. Auch die Prüfung auf Ammoniak nach der Methode von Schloesing lieferte uns eine hohe Zahl, nämlich in 1 Kilo unserer lufttrockenen Gartenerde 300 mg. Fodor[2]) gibt als Mittel für seine verunreinigten Böden 33,5 mg Ammoniak an, für seine stärkst verunreinigte Probe 426,4 mg.

1) Fodor, in Weyl, Handbuch der Hygiene. Bd. I. p. 129 u. 130.
2) Fodor loc. cit. dieselben Seiten.

Der Boden des von uns untersuchten Gartens bestand, wie die weitere Untersuchung zeigte, vornehmlich aus Lehm.

Zum Schluß sei es uns gestattet, unsere Resultate zusammenzufassen. Die Faeces eines Typhuspatienten kommen undesinfiziert in eine zementierte Grube, verweilen darin 5 Wintermonate, werden dann als Dünger auf einen Lehmboden gegossen und verbleiben auf demselben 15 Tage lang bei Wintertemperatur. Es glückt, aus diesem Boden durch Verarbeitung von verhältnismäßig nicht allzugroßen Mengen von Material, aber mittels zahlreicher Platten, die bei niederer Temperatur aufbewahrt wurden, legitime Typhusbacillen herauszuzüchten. Unsere Beobachtung beweist also, daß unter natürlichen Verhältnissen die Typhuserreger sich sehr lange am Leben erhalten. Wir müssen in der Aetiologie des Abdominaltyphus mit dieser Tatsache rechnen. Es ist selbst nach Monaten noch gefährlich, Inhalt von Abortgruben, in welche undesinfizierte Stuhlgänge von Typhuspatienten gelangten, auf Felder, Gärten auszugießen. Man streut auf diese Weise Typhuskeime aus. Dienen diese so gedüngten Erden zum Bau von Feldfrüchten, die ungekocht genossen werden, so ist die Gefahr, das hierdurch Typhus entstehen kann, vielleicht nicht zu unterschätzen. Haben doch Wurtz und Bourges, wie wir oben auseinandergesetzt, gezeigt, daß die wachsenden Pflanzen auf ihren Blättern und Stengeln pathogene Keime emporzutragen vermögen. Wir haben unter Umständen hier einen der Wege vor uns, auf dem der Abdominaltyphus vom Land in die Stadt verschleppt wird. Vielleicht ist weiter in dieser langen Lebensfähigkeit der Typhusbacillen in den Abtrittgruben die Ursache zu suchen, warum an einzelnen Orten der Abdominaltyphus nicht zum Erlöschen zu bringen ist, warum er nach monatelanger Pause immer und immer wieder ausbricht. Vom hygienischen Standpunkt aus müssen wir also auf eine Desinfektion der Abtrittgruben dringen, sobald nur die geringste Möglichkeit vorliegt, daß undesinfizierter Typhusstuhl oder Urin in dieselben hineingelangt sind. Und mit dieser Möglichkeit werden wir in der überwiegenden Zahl der Fälle zu rechnen haben. Wird doch nur allzu häufig in den ersten Tagen eines Typhus die Krankheit nicht diagnostiziert, oder, wie in unserem Fall, zunächst ein Arzt gar nicht zugezogen. Um jedoch diese strenge Desinfektion der Abtrittgruben zu ermöglichen, erscheint es absolut nötig, daß auch die leichtesten Fälle von Typhus als solche richtig erkannt und daß sie energisch verfolgt werden.

# Zur Frage der morphologischen und biologischen Charakterisierung des Meningococcus intracellularis.

Erwiderung auf den unter dem gleichen Titel in dieser Zeitschrift (Bd. XXXIII. 1902. No. 1) erschienenen Aufsatz des Herrn Prof. H. Jaeger in Königsberg i. Pr.

[Aus dem pathol.-anatom. Universitäts-Institute in Wien (Prof. A. Weichselbaum).]

Von **H. Albrecht** und **A. Ghon.**

Kaum daß wir unsere Antwort auf O. Heubners Angriffe gegen uns und unseren im Jahre 1901 in der Wiener klinischen Wochenschrift erschienenen Aufsatz beendet haben [1]), sehen wir uns leider gezwungen, in derselben Frage gegen eine zweite Arbeit Stellung zu nehmen, in welcher Herr Prof. Jaeger in Königsberg — wie es scheint, durch die Angriffsweise Heubners ermutigt — mit allen Mitteln versucht, uns in der Frage der Aetiologie der Meningitis cerebrospinalis epidemica zu diskreditieren. So wenig sympathisch uns auch eine derartige, vielfach ganz unsachliche Polemik ist, so müssen wir doch weitschweifiger, als uns das lieb ist, auf diesen Kampfartikel eingehen.

In unserer oben erwähnten Arbeit bemühten wir uns, so sachlich wie möglich zu sein und bei unserer Kritik jedes der Person irgend eines Autors nur irgend wie nahetretende Wort zu vermeiden, weil es uns einzig und allein darum zu tun war, in eine arg verworrene, dafür aber um so interessantere Sache etwas Klarheit zu bringen.

Die Antworten, die darauf erfolgten, namentlich die Jaegers, sind nun aber in einem Ton gehalten, der so sehr persönlich ist, daß er in einer wissenschaftlichen Diskussion nicht mehr als zulässig angesehen werden kann.

Wenn wir nun auch in folgendem soviel als möglich vermeiden wollen, selbst in einen derartigen Ton zu verfallen, so läßt es sich doch nicht ganz umgehen, auch auf einige persönliche Angriffe unseres Gegners entsprechend zu antworten.

Jaeger beginnt seinen Aufsatz mit der von vielem Selbstbewußtsein zeugenden Behauptung, daß er gedacht habe, durch sein „kürzlich erschienenes Buch den gegenwärtigen Stand der Epidemiologie und Aetiologie der Genickstarre für einige Zeit ausreichend gekennzeichnet zu haben“. Dieser Behauptung fügt er fast höhnend hinzu, „vielleicht wäre der Aufsatz, wenn mein Buch etwas früher erschienen wäre, ungeschrieben geblieben“ [2]).

Wie unberechtigt diese Aeußerung ist, davon möge sich der objektiv

1) Vergl. Albrecht und Ghon, Ueber die Aetiol. und patholog. Anatomie der Meningitis cerebrosp. epid. (Wiener klin. Wochenschr. 1901. No. 41.) O. Heubner, Noch einmal der Meningococcus. (Jahrb. für Kinderheilkunde. N. F. Bd. LVI. Heft 3) und Albrecht und Ghon, Noch einmal der Meningococcus. (Wiener klin. Wochenschr. 1902. No. 46.)

2) Wie Jaeger selbst sagt, hat sich unsere Arbeit mit dem Erscheinen seines Buches „gekreuzt“, d. h. „sie ist mir von den Herren Verfassern zu der Zeit zugegangen, als ich eben die ersten Exemplare meines Buches in die Hände bekommen hatte“.

urteilende Leser nachfolgender Zeilen, oder jeder, der über die Einzelheiten der ganzen Frage orientiert, der Sache auf den Grund kommen will, selbst überzeugen.

Wir zweifeln nicht, daß jeder ernst zu nehmende Fachkollege zu dem zwingenden Urteile kommen muß, daß doch eher das gepriesene „Buch“ ungedruckt geblieben wäre, wenn eben Jaeger unseren Aufsatz früher gelesen hätte. Man kann doch wohl füglich über eine Infektionskrankheit und deren Epidemiologie nicht gut ein ganzes „Buch“ schreiben, ohne deren Aetiologie genau und richtig zu kennen.

Soviel zur Abwehr der einleitenden Bemerkungen Jaegers.

Aber auch die weiter folgenden Behauptungen Jaegers bedürfen einer energischen Korrektur. Ob der Diplococcus Weichselbaum „ins Meer der Vergessenheit versunken“ war oder nicht, ist für unsere Frage zunächst ziemlich gleichgültig. Jedenfalls haben wir selbst die Bedeutung der Jaegerschen Beobachtungen gerade in unserer so verpönten Arbeit in mehr als gebührender Weise anerkannt.

Nun schiebt uns aber Jaeger die Behauptung in die Schuhe, als hätten wir gesagt, daß die von ihm „damals (1895) gefundenen Organismen mit denjenigen Weichselbaums nicht identisch seien“, und wirft uns in Bezug darauf die Inkonsequenz vor, daß wir die Acceptierung der durch ihn „(am unechten Coccus??) festgestellten Tatsache, daß der Diplococcus intracellularis gerade für die epidemische Meningitis und ihren Erreger charakteristisch“ sei, nicht verschmähen.

Diese Art der Darstellung ist vollkommen unrichtig.

Es wird genügen, zur klaren Widerlegung der Prämisse Jaegers vorerst die diesbezüglichen Stellen unserer früheren Arbeit wörtlich zu wiederholen. Sie lauten (p. 3): ...„erst nach der 1895 erschienenen Arbeit Jaegers wurde das Interesse für die Aetiologie der idiopathischen Cerebrospinalmeningitis ein allgemeineres. Jaeger war nämlich der erste, der die Gelegenheit hatte, auf Grund der Entdeckung Weichselbaums ausgedehntere bakteriologische Untersuchungen bei einer Meningitisepidemie anzustellen, welche in den Jahren 1893 und 1894 in den Garnisonen Ludwigsburg und Stuttgart herrschte. Auch seine Untersuchungen bestätigten die Angaben des oben genannten Autors, welche sich damals nur auf sporadische Fälle bezogen hatten, indem Jaeger den Diplococcus intrac. in allen 14 von ihm untersuchten Fällen nachweisen konnte und den schon von Weichselbaum scharf durchgeführten Beweis wiederholte, daß der Diplococcus pneumoniae und der Diploc. intrac. zwei selbständige, voneinander grundverschiedene Bakterienarten seien. Jedoch kam er zu Abweichungen in einzelnen, nicht unwesentlichen Punkten . . . .“

Auf p. 4 fahren wir also fort: „Der Grund, warum wir gleich an dieser einleitenden Stelle die Untersuchungsresultate Jaegers etwas ausfürlicher wiedergeben, liegt für uns darin, daß die unmittelbare Folge dieser von den ursprünglichen Angaben Weichselbaums abweichenden und nicht immer ganz präzisen Darstellung die war, daß bei einer ganzen Reihe späterer Untersucher eine förmliche Verwirrung entstand, und daß dieselben im festen Glauben, den Diploc. intrac. vor sich zu haben, Angehörige der Staphylo- und Streptokokkengruppe oder des Tetragenus für jenen halten konnten . . . .“

So schrieben wir in der Einleitung unserer Arbeit, weil es uns hier nur darum zu tun war, vorerst die Ergebnisse der beiden in der ätio-

logischen Erforschung der Meningitis crebrosp. ältesten Arbeiten von Weichselbaum und Jaeger festzustellen.

Aber auf p. 22 unserer Arbeit schrieben wir als Schlußsatz der von uns an Jaegers Untersuchungsresultaten geübten Kritik folgendes: „Eine Aehnlichkeit in dem kulturellen Verhalten des Coccus Jaeger und des Coccus Weichselbaum besteht nicht, die Kulturen des von Jaeger beschriebenen Coccus haben nichts gemein mit dem Diplococcus intrac. mening. Weichselbaum, sie stellen eine andere Art dar."

Und dabei wollen wir auch bleiben und Herrn Jaeger den vielleicht etwas dunkel, weil schonend in der Form, gehaltenen Sinn unseres Aufsatzes ganz deutlich wiederholen, weil er ihn allem Anscheine nach nicht verstanden hat: Wir meinten und meinen, Jaeger habe Fälle von echter idiopathischer Cerebrospinalmeningitis, durch den Diploc. intrac. erzeugt, zur Untersuchung in Händen gehabt, er hat auch die gonokokkenähnlichen Mikroben in den Ausstrichpräparaten vom Exsudat einiger Fälle gesehen, aber kultivieren und weiterzüchten konnte er sie nicht. Das ist der Kernpunkt, um den sich die ganze Streitfrage dreht.

Auf p. 28 unserer Arbeit geben wir dieser unserer Meinung auch ganz klaren Ausdruck, indem wir sagen: „Wir glauben hiermit gezeigt zu haben, daß eine Reihe von Autoren aus Fällen von sporadischer oder epidemischer Genickstarre Kokken gezüchtet haben, die als identisch mit dem Diploc. intrac. mening. Weichselbaum resp. dem Meningococcus von Jaeger-Weichselbaum bezeichnet wurden, tatsächlich aber verschiedenen, vielfach untereinander differenten Kokkenformen angehören, die mit der von Weichselbaum beschriebenen, wohlcharakterisierten Art nichts zu tun haben. Dies gilt auch von dem Coccus Jaeger . . . Trotzdem sind wir der Meinung, daß viele dieser Autoren echte Weichselbaumsche Genickstarrefälle untersucht hatten und in den Ausstrichpräparaten vom Meningealexsudat auch den Diploc. intrac. mening. nachweisen konnten, nicht aber in der Kultur."

Damit erachten wir die oben schon als unrichtig bezeichnete Behauptung Jaegers genügend widerlegt und wollen nun die weitere gegen uns gerichtete Beweisführung Jaegers in gebührender Weise charakterisieren.

Er schlägt nämlich nun folgenden Weg ein: Er greift die von uns aufgestellten 7 Hauptmerkmale des Micrococcus mening. heraus und unterzieht sie einer Kritik, indem er sich von Schritt zu Schritt auf sein erst nach unserer Arbeit erschienenes „Buch" beruft und uns auf die in derselben enthaltenen Bemerkungen verweist. Darauf kommen wir noch zurück. Bei dieser Kritik kommt nun J. zu dem sonderbaren, aber für uns, die wir ja seine Kulturen kennen, nicht sehr wunderlichen Schlusse, daß außer dem Punkt 6 (Geringe Pathogenität für unsere gebräuchlichen Versuchstiere) eigentlich kein einziger anderer Punkt ganz und vollständig mit seinen Resultaten stimmt, ja zumeist behauptet er das reine Gegenteil. Das muß doch dem Unbefangenen und objektiv Denkenden von vornherein und bei nur ganz allgemeiner Betrachtung der Sachlage auffallen, besonders bei Berücksichtigung des Umstandes, den wir hier ganz besonders betonen wollen, daß die Aufstellung der von uns hervorgehobenen 7 Hauptmerkmale des Micrococcus mening. das Produkt unserer eingehenden Untersuchungen von jetzt mehr als 30 durch Obduktion ganz sicher

gestellten Fällen von Genickstarre ist, und daß sich bei unseren vielfach kontrollierten Untersuchungsresultaten jedesmal eine solche Uebereinstimmung ergeben hat, wie sie eben zur Aufstellung von Artmerkmalen eines bestimmten spezifischen Mikroben unbedingt notwendig ist.

Warum nun im Gegensatze dazu Jaeger bei seinen bakteriologischen Untersuchungen fast gar keine einheitlich charakteristischen Merkmale fand, soll weiter unten erklärt werden.

Jaeger selbst erklärt dies sehr einfach: „Um diese Behauptung" (wir hätten in einer Reihe von Fällen den echten Weichselbaumschen Coccus gefunden) „zu stützen, gehen sie so vor, daß sie bei dem nach dem übereinstimmenden Urteil zahlreicher Forscher — ich nenne u. a. nur C. Fraenkel — etwas variierenden Coccus einige Artmerkmale herausgreifen, welche sie willkürlich für kanonisch erklären."

Wir wollen nun auf die Befunde Fraenkels, auf welche J. sich so ausdrücklich bezieht, etwas näher eingehen. Sie betreffen gar keine Fälle von epidemischer Genickstarre, sondern 3 Fälle von schwerer Conjunctivitis (!) ohne Erkrankung des Zentralnervensystems.

In diesen 3 Fällen hat C. Fraenkel (Zeitschr. f. Hyg. 1899) in reichlichen Mengen einen Coccus im Konjunktivalsekrete nachgewiesen, den er mit dem „von Weichselbaum und Jaeger beschriebenen Diplococcus intracellularis oder Meningococcus" identifiziert. C. Fraenkel ging also von der Voraussetzung aus, daß der von Jaeger beschriebene Coccus tatsächlich identisch sei mit dem von Weichselbaum gefundenen, und in dieser Voraussetzung sprach er auch den von ihm aus Conjunctivitisfällen gezüchteten Coccus als „Meningococcus" an. Daß aber eine Identität zwischen diesem Conjunctivitiscoccus und dem Coccus von Weichselbaum nicht bestehe, darauf haben wir schon in unserer vorjährigen Arbeit hingewiesen (p. 31). Auf keinen Fall aber erscheint es uns erlaubt, als Hauptargumente Fälle, die mit der Genickstarre nichts zu tun haben, anzuführen. Warum stützt sich H. Jaeger nicht auf eine wirklich einwandfreie größere Epidemie von Meningitis cerebrospinalis mit den für unsere Frage erorderlichen pathologisch-anatomischen Befunden?

Wenn Jaeger nun, auf solche Gegenbeweise gestützt, unsere Untersuchungsergebnisse als „willkürlich kanonisch" erklärt, so ist dies eine gänzlich ungerechtfertigte Herabsetzung unserer Arbeit, welche nur zu dem Zwecke geschieht, um einen verlorenen Posten mit allen Mitteln zu halten.

Zu Jaegers Kritik unseres Punktes 1 haben wir zunächst zu bemerken, daß folgende Behauptung Jaegers der Wahrheit direkt zuwiderläuft, er sei „der erste gewesen, der gerade auf Grund der Aehnlichkeit mit dem Gonococcus die grundsätzliche Artverschiedenheit des von Weichselbaum beschriebenen Diplococcus intra cellularis vom Pneumococcus Fraenkel mit aller Schärfe betont" habe

Zur Charakterisierung dieser Behauptung dürfte es genügen, die entsprechenden Stellen aus der Arbeit Weichselbaums (Fortschritte der Medizin. 1887) einfach anzuführen; sie lauten: „Außer den bisher angeführten 4 Fällen hatte ich noch 6 weitere Fälle von Meningitis cerebrospinalis zu untersuchen Gelegenheit, bei denen ich aber eine ganz andere Bakterienart auffinden konnte", und ferner: „Im meningitischen Exsudat und in der Hirnventrikelflüssigkeit finden sich in Deckglaspräparaten mäßig viele Kokken, die gewöhnlich zu 2 angeordnet sind

und dann sich gegenseitig derartig abplatten, daß jeder Coccus eine Halbkugel darstellt. Sie liegen entweder frei zwischen den Eiterkörperchen oder im Innern derselben, woselbst sie mitunter in ziemlicher Anzahl vorhanden sind und hierdurch an Gonokokken erinnern" und schließlich „Wenn wir aus den bisherigen Untersuchungen über die Aetiologie der Meningitis cerebrospinalis einen Schluß ziehen, so lautet er dahin, daß wir vorläufig zwei verschiedene Arten von Bakterien kennen, welche eine primäre akute Meningitis cerebrospinalis veranlassen können, nämlich den Diplococcus pneumoniae (Fraenkels Pneumoniecoccus) und den Diplococcus intracellularis meningitidis."

Diese Schlußfolgerung hat W. auch in absolut einwandfreier Weise bewiesen, und es erscheint daher die eingangs erwähnte Behauptung Jaegers geradezu unbegreiflich, da ja Jaeger die Arbeit Weichselbaums aufs genaueste kennen muß.

Was nun weiter die strittige Frage der Stellung des Microc. mening. im Bakteriensystem betrifft, so wollen wir zur Abwehr Jaegers vorerst die Sachlage mit wirklich historischer Treue feststellen; wir bleiben dabei natürlicherweise auf dem Standpunkt, daß wir das „Buch" Jaegers, weil es erst nach unserer Arbeit erschienen war, gar nicht zu berücksichtigen hätten.

Allerdings befolgt Jaeger in seiner Streitschrift die sehr eigentümliche Methode, uns, so oft er kann, auf dieses Buch zu verweisen, und es wäre für uns gewiß sehr verlockend, auf die „salomonischen" Sprüche dieses „Buches" gleich hier näher einzugehen, die vielfach Zweifel und Unsicherheit des Autors erkennen lassen.

Da uns dies aber doch zu weit führen würde, können wir in folgendem nur auf ganz bestimmte Stellen des „Buches" kurz eingehen.

Wie wir schon oben aus unserer früheren Arbeit zitiert haben, entstand auf Grund der nicht immer ganz präzisen und, wie wir nunmehr weniger schonend hinzusetzen wollen, mangelhaften und widerspruchsvollen Darstellung der von den ursprünglichen Angaben Weichselbaums abweichenden Untersuchungsresultate Jaegers in seiner ersten Arbeit (1895) eine förmliche Verwirrung bei einer ganzen Reihe von Autoren namentlich bezüglich der Stellung des Microc. mening. im Bakteriensysteme. Insonderheit der Befund Jaegers, daß mitunter lange Kettenbildung (bis 20 und 30 Exemplare) auftreten, wurde bis zum Jahre 1902 von niemandem, auch von Jaeger nicht, für ein „Kuriosum" gehalten oder so bezeichnet, sondern trug im Gegenteil wesentlich zu weiteren Verwechslungen und Irrtümern bei.

So kam es z. B., daß Lehmann und Neumann sowohl in der 1. als auch in der 2. Auflage ihres „Atlas und Grundriß der Bakteriologie" (1896 und 1899) den Microc. mening. in die Streptokokkengruppe einrechneten, indem sie sagten, „einige Autoren haben einen dem Streptococcus lanceolat. zwar sehr nahestehenden, aber angeblich deutlich unterscheidbaren Organismus beschrieben, namentlich eingehend neuerdings Jaeger".

Als nun 4 Jahre später, im Jahre 1899, sich Jaeger in einer zweiten Aeußerung[1]) gegen diese Einreihung im System verwahrte und

---

1) Jaeger, H., Epidemiologisches und Bakteriologisches über Cerebrospinalmeningitis. (Deutsche med. Wochenschr. 1899.)

sich dafür aussprach, daß der Erreger der epidemischen Genickstarre doch dem Typus „Staphylococcus“ zugehöre, war es bereits zu spät, weil nun gerade infolge der unsicheren und sich widersprechenden Angaben Jaegers vielen Nachuntersuchern der feste Glaube an eine schärfere Differenzierung dieses Mikroben fehlte.

Wir schrieben daher in unserer Arbeit (p. 20) folgendes: „Wir müssen in Uebereinstimmung mit einer Reihe von Autoren das Auftreten langer Ketten als völlig unvereinbar mit dem Diploc. intrac. mening. erklären. In einer zweiten Arbeit erklärte Jaeger selbst die „Lagerung in längeren Ketten“ nicht wieder (17 Fälle) beobachtet zu haben, so daß er die Einreihung des Diploc. intrac. mening. in die Gattung Streptococcus, wie sie Lehmann in seinem Atlas wohl zweifellos auf Grund der Befunde von Jaeger machte, als „nicht für zulässig“ hielt.

So der wahre Sachverhalt; und auf Grund dessen haben wir auch in unserem Aufsatz nicht behauptet, daß „alle nach Jaegers Arbeit von 1895 erschienenen Arbeiten“ von dessen Beschreibung abweichen, wie Jaeger fälschlich anführt. Bei genauerer Durchsicht unserer Arbeit wird Jaeger selbst finden, daß wir einfach versuchten, eine Trennung aller jener Arbeiten, deren Befunde mit den Angaben Weichselbaums und unseren eigenen Untersuchungsresultaten übereinstimmen, von den vielen anderen, welche eben unseren kritischen Anforderungen nicht entsprechen, durchzuführen.

Wir müssen noch auf den sonderbaren Befund von langen Ketten, den Jaeger nunmehr als ein „Kuriosum“ bezeichnet, zurückkommen. Es muß hier konstatiert werden, daß Jaeger selbst diesen Befund erst recht spät (ungefähr anno 1901) als sehr „kurios“ bezeichnet hat. Er selbst gibt an, ihn nur 2mal und dann nicht mehr beobachtet zu haben und hält ihn deswegen für ein „Kuriosum“. Aber sind die Befunde von Kamen, Heubner, u. a., die Jaeger in seiner Streitschrift als Kronzeugen anführt, weil auch sie so lange Ketten beim Diploc. intrac. gesehen haben, auch „Kuriosa“?

Dieser Widerspruch fällt Jaeger nicht auf; er hebt vielmehr andererseits hervor, daß alle „an diesen Ketten die Merkmale der beginnenden Teilung nach der zweiten Richtung des Raumes, auf welche zum erstenmale ich aufmerksam gemacht habe, in Gestalt einer Teilungslinie in der Längsrichtung der Kette oder ausgebildeter Bruchstücke von Parallelketten beobachtet“ haben.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß Jaeger in seinem eigenen Interesse viel besser getan hätte, diese seine sogenannte „Entdeckung“ gar nicht zu erwähnen, geschweige denn sie in solcher Form herauszustreichen. Die Angaben, die Jaeger in seiner ersten Arbeit (1895) bezüglich der Teilungsformen seines Meningococcus in den Kulturen beschreibt, widersprechen nämlich seinen eigenen Abbildungen, und letztere sind völlig unvereinbar mit der Stellung einer Kokkenart in der Gattung Micrococcus resp. Merista.

Und so verliert auch der an und für sich kindische Vergleich von dem Afrikareisenden und den zwei Buckligen unter der Völkerrasse jeden Sinn; denn Jaeger und seine Kronzeugen zusammengenommen, haben weit öfter als 2mal sogenannte Kuriosa beobachtet, weil sie in der Kultur nicht den echten Microc. mening. vor sich hatten, sondern andere Mikroben, bei denen eben Bildung langer Ketten kein Kuriosum ist.

Und was Jaegers schulmeisterische Zurechtweisung bezüglich seiner Photogramme betrifft, so können wir hier zu seiner Beruhigung sagen, daß wir uns seine Photogramme wiederholt, und, wie wir glauben, mit dem richtigen Verständnis angesehen haben. Wir wollen daher auch diesmal mit unseren Urteilen über dieselben nicht zurückhalten. Es lautet:

Fig. 5 auf Taf. VII (Zeitschr. f. Hyg. 1895) zeigt Kokken, die der Gattung Micrococcus oder Sarcina angehören, beweist aber nicht, daß das dem Photogramm zu Grunde gelegene Originalpräparat einer Kultur des Coccus Weichselbaum entstamme, und ist sicher kein Photogramm des Coccus Weichselbaum, wenn H. Jaeger das auf p. 358 dieser seiner Arbeit bezüglich des Verhaltens zur Gramschen Methode Gesagte: „... in Ausstrichen aus Exsudat oder Reinkultur bleiben sie aber gefärbt“, aufrecht hält. Fig. 6 auf derselben Tafel entspricht dagegen sicher einer Bakterienart aus der Gattung Streptococcus und nicht Micrococcus.

In einem folgenden Absatz kommt nun Jaeger auf das Verhalten des Microc. mening. zur Gramschen Färbungsmethode, als dem zweiten Teile unseres ersten Punktes, zu sprechen.

Obwohl wir unsere nicht anzufechtenden, unzählige Male kontrollierten Untersuchungsresultate ausführlich genug in unserer Arbeit mitgeteilt haben, und über die Gramsche Färbungsmethode gerade genug in der Erwiderung an Heubner gesagt haben, müssen wir trotzdem auch hier nochmals in Kürze auf diesen Punkt eingehen. Für Jaeger war natürlich dieser Punkt „schon vor Erscheinen der Arbeit“ von G. und A. in seinem „Buche“ erledigt. Er behauptet hier sowohl wie in seinem jüngsten Artikel, der Microc. mening. nehme eine besondere „Mittelstellung“ ein und schreibt dies hauptsächlich der Methode der Ausführung der Gram-Färbemethode zu. Er hält es andererseits nicht für überflüssig und geschmackslos, uns daran zu erinnern, daß bei derselben eine chemische Reaktion eintritt und ruft eine Reihe von anderen Autoren zu Hilfe, um seine deutlich hervortretende Unsicherheit zu verdecken. Ebenso wie bei Heubner, bleiben auch bei Jaeger das eine Mal die Kokken (auch bei einem und demselben Falle und Stamme) prompt nach Gram gefärbt, das andere Mal entfärben sie sich ebenso prompt. Das gilt sowohl für das Ausstrichpräparat aus der Reinkultur wie aus dem Exsudat. Das nennt Jaeger „das ewige biologische Gesetz der Variabilität“ — der Methode oder der Kokken??!

Es bleibt uns nichts übrig, als noch einmal mit aller Deutlichkeit das unabänderliche Verhalten des Microc. mening. zur Gramfärbung, wie es sich aus allen unseren zahlreichen Erfahrungen ergibt, zu betonen, damit Jaeger, wenn er einmal eine Reinkultur des echten Microc. mening. in die Hände bekommen sollte, sich von der Richtigkeit unsrer Behauptungen überzeugen könne. Der Microc. mening. verhält sich zur Gramschen Färbemethode (über die Ausführung vergl. A. u. G.: „Noch einmal der Meningococcus“.) Wiener klin. Wochenschr. 1902. No. 46) negativ, d. h. er entfärbt sich unter allen Umständen prompt. Er ist ebenso — wenn wir dafür einen neuen Ausdruck gebrauchen dürfen — obligat Gram-negativ, wie z. B. Microc. gonorrhoeae oder Bac. typhi oder influenzae, sowohl im Ausstrichpräparat aus Exsudat oder Reinkultur, wie in Gewebsschnitten.

Eine Mittelstellung oder gar eine Sonderstellung ihm anzuweisen, wie manche Autoren es versuchen, ist falsch.

Damit ist für uns die schon übermäßig leidige Frage betreffs der Gram-Färbemethode endgültig erledigt.

Wir wenden uns nun zu Jaegers Kritik des zweiten der von uns seinerzeit aufgestellten Merkmale, daß nämlich der echte Coccus Weichselbaum nur bei höheren Temperaturen wachse. Auch in diesem Punkte können wir unsere Meinung trotz Jaegers Einsprache nicht ändern. Der Verweis auf seine Monographie ist auch wieder völlig überflüssig, weil dieselbe nichts Neues enthält, und es ist unrichtig, daß wir den „Versuch gemacht“ haben, „durch willkürliche Demarkationslinienziehung bei einer bestimmten Wachstumstemperatur einen echten von einem falschen Coccus Weichselbaum zu unterscheiden.“

Wir haben weder auf Agar, noch auf Gelatine, noch auch auf anderen Nährboden Wachstum bei Temperaturen von 18—22° C beobachten können, auch dann nicht, wenn wir mit Stämmen arbeiteten, die jahrelang dem saprophytischen Wachstum angepaßt waren. Demgegenüber erhielten wir sowohl mit dem von H. Jaeger übersendeten als auch mit dem von Král bezogenen Jaegerschen Stamm immer und immer bei diesen Temperaturen das dieser Kokkenart entsprechende üppige Wachstum entlang dem ganzen Impfstiche.

Wir möchten dazu H. Jaeger in Erinnerung bringen, daß es auch noch andere Bakterien gibt, welche bei der erwähnten Temperatur, die man schlechtweg als Zimmertemperatur bezeichnet, nicht wachsen, und daß es insbesondere der dem Microc. mening. c. sp. sehr nahestehende Microc. gonorrrhoeae ist, welcher gleichfalls bei dieser Temperatur niemals Wachstum zeigt.

Jaeger irrt sich sehr, wenn er glaubt, daß es gleichgültig sei, ob die untere Wachstumsgrenze bei 25—27° C liege oder aber, ob Wachstum noch bei Zimmertemperatur, i. e. bei Temperaturen von 18—22° C erfolge. Und wenn es auch richtig ist, daß Bakterien, die für gewöhnlich nur bei Bruttemperatur gedeihen, unter Umständen an niedere Temperaturen angepaßt werden können, so ist das doch nicht die Regel. Ein schönes Beispiel dafür bietet der Diplococcus pneumoniae.

Warum nun, fragen wir, gelang es immer nur denjenigen Autoren, die es unserer Ansicht nach nicht mit dem echten Coccus Weichselbaum zu tun hatten, ihre Stämme so anzupassen, daß sie schließlich bei Zimmertemperatur gediehen, während alle diejenigen Autoren, die den echten Coccus Weichselbaum in den Händen hatten, darüber nichts berichten? Wir selbst haben doch auch eine größere Reihe von Stämmen des unserer Ansicht nach allein echten Coccus Weichselbaum in den Händen gehabt und besitzen viele davon noch jetzt und keiner von diesen zeigte je Wachstum bei Zimmertemperatur, d. i. bei 18—22°. Und ausdrücklich sagen wir dazu auf p. 10 unserer oft erwähnten Arbeit: „Es gelang uns auch nicht, trotz wiederholter Versuche, eine Anpassung an diese Temperaturen [1]) zu erzielen, gleichgültig, ob wir frisch herausgezüchtete oder schon in vielen Generationen fortgezüchtete Stämme zu diesen Versuchen benützten.“ Wir haben diese Versuche wiederholt ausgeführt und diese Anpassung

1) i. e. 19—21° C.

derart versucht, daß wir Agarkulturen, die bei 37° C durch 24 Stunden gewachsen waren, in den Schrank mit Zimmertemperatur stellten und davon zunächst nach 24 Stunden abimpften. Diese abgeimpften Kulturen hielten wir wieder durch 24 Stunden bei 37° und stellten sie nachher für 48 Stunden in die Zimmertemperatur, um nach dieser Zeit wieder abzuimpfen etc. etc. Länger als 4—5 Tage hielten sich die Kulturen dabei in Zimmertemperatur nicht lebensfähig, und nur einmal gelang es uns, einen Stamm auf diese Weise 12 Tage lang überimpfbar zu erhalten. Dabei aber ergab sich die sicher interessante Tatsache, daß sich in den folgenden Generationen die Dauer der Lebensfähigkeit bei Zimmertemperatur nicht verlängern ließ, sondern im Gegenteil wieder verkürzte. Denn weiterhin ließ sich dieser Stamm immer wieder nur durch 4—5 Tage bei Zimmertemperatur lebensfähig erhalten. Auch war der Uebergang dieser 12-tägigen Ueberimpfbarkeit kein allmählicher, wie man es hätte erwarten sollen, sondern auf einmal und nur dieses eine Mal blieb dieser Stamm 12 Tage bei Zimmertemperatur lebensfähig, während er sich sonst nur ca. 4—5 Tage lang überimpfbar erhielt. Auch derart behandelte Stämme zeigten niemals Wachstum bei Zimmertemperatur und deshalb sind wir durchaus berechtigt, zu sagen, daß der echte Coccus Weichselbaum bei Zimmertemperatur kein Wachstum zeige. Der Micr. mening. cerebrosp. verhält sich auch in dieser Beziehung völlig identisch dem Erreger der Gonorrhöe, nimmt also nicht eine Ausnahmestellung ein. Unserer Ansicht nach dokumentiert der Micr. mening. cerebrosp. auch durch dieses Verhalten seine Verwandtschaft zum Micr. gonorrhoeae. Unter keinen Umständen aber ist die Konstatierung dieser Tatsache der „Versuch einer willkürlichen Demarkationslinienziehung“. Jaeger scheint nicht zu wissen, daß es außer den eben genannten beiden Bakterien auch noch andere gibt, die bei 22° C, i. e. Zimmertemperatur, kein Wachstum zeigen, wohl aber bei 25—27° C ihre untere Wachstumsgrenze haben. Und gerade diese Tatsache wird auch von anderen Bakteriologen, deren Namen sonst recht guten Klang besitzen, anerkannt. Wenn Jaeger dies nicht tun will, so ist das seine Sache, unserer Meinung nach aber ist es unerlaubt, Beobachtungen, welche den geforderten wissenschaftlichen Ansprüchen gerecht werden, eigene lückenhafte und sich vielfach widersprechende gegenüberzustellen.

Was die Punkte 3 und 4 betrifft, welche das Aussehen der Kolonieen auf der Agarplatte und das Wachstum in Agarstichkulturen behandeln, so nimmt es uns natürlich nicht wunder, wenn Jaeger die von uns in dieser Hinsicht angegebenen Eigentümlichkeiten nicht finden konnte, da er ja andere Kulturen in Händen hatte. Uns erscheinen aber gerade diese Eigentümlichkeiten für die Artbestimmung als wesentlich, weil sie wieder auf die nahe Verwandtschaft zum Microc. gonorrhoeae hinweisen. Und deshalb haben wir auch diese Merkmale gebührend hervorgehoben.

Unter allen Umständen aber hätte Jaeger bei Erörterung des Punktes 3 die Bemerkung unterlassen sollen, daß er „erstaunt war, zu lesen, daß bei so kräftigem Wachstum die Kulturen eine so abnorm geringe Lebensfähigkeit besitzen sollen, wie .... sie angeben“. Oder hält Jaeger kräftiges Wachstum in der Kultur und geringe Lebensfähigkeit für Widersprüche?

Zu Punkt 5, der die allerdings neue Beobachtung der Kahmhautbildung in Fleischbrühekulturen bringt, beschränkt sich Jaeger auf die

Bemerkung, daß wir mit dieser Beobachtung isoliert dastehen. Er verspricht darauf zurückzukommen, was aber nicht geschieht. Dem darüber in unserer Arbeit vom Jahre 1901 Gesagten haben wir hinzuzufügen, daß auch alle inzwischen neu erhaltenen Stämme diese Eigentümlichkeit in den Fleischbrühekulturen zeigen. Wir zweifeln nicht, daß auch bei allen anderen Stämmen des echten Coccus Weichselbaum diese Eigentümlichkeit zu beobachten ist und immer sein wird, wenn die Bedingungen erfüllt werden, die wir für das Zustandekommen als nötig erachten. Mit diesem eigentümlichen Verhalten in Fleischbrühekulturen weist der Microc. mening. cerebrosp. ebenso wie mit seinem in Punkt 4 angegebenen Verhalten darauf hin, daß er ein Aërobion ist, geradeso wie der Erreger der Gonorrhöe, der ja gleichfalls Kahmhautbildung in flüssigen Nährsubstraten erkennen läßt. Wir können Herrn Jaeger übrigens die Versicherung geben, daß wir mit der Beobachtung dieser Eigentümlichkeit auch nicht mehr isoliert dastehen, daß sie uns vielmehr bereits von anderer Seite bestätigt wurde.

Der Punkt 6, welcher die Pathogenität für die gebräuchlichen Versuchstiere behandelt, bietet H. Jaeger keinen Anlaß zur Unzufriedenheit mit uns, weil zufälligerweise auch alle seine Kokken keine oder nur geringe Pathogenität zeigten. Es ist aber auch der einzige Punkt unserer beiderseitigen Uebereinstimmung.

Um so unangenehmer aber berührt Jaeger das 7. der von uns aufgestellten Merkmale: „Geringe Lebensfähigkeit". In diesem Punkte weicht das Verhalten seiner Kokken von dem des echten Coccus Weichselbaum sehr stark ab. Und diese Tatsache gefällt H. Jaeger um so weniger, als sie geeignet erscheint, das Gebäude zu erschüttern, welches Jaeger bezüglich der Epidemiologie der Genickstarre besonders ausführlich in seinem „Buche" aufgebaut hat.

Wir haben gerade diesem Punkte unser besonderes Interesse zugewendet und fanden auch darin Uebereinstimmung des Microc. mening. cerebrosp. mit dem Mikroc. gonorrhoeae. Beide sind — wenigstens in Kulturen — oft recht lange lebensfähig zu erhalten, aber sie müssen bei höheren Temperaturen gehalten und vor Austrocknung geschützt werden. Es gelang uns auf diese Weise, einen Stamm 185 Tage lang überimpfbar zu halten, und wir zweifeln gar nicht, daß es ohne besondere Schwierigkeiten gelingen wird, Kulturen noch länger lebensfähig zu erhalten — aber nur unter den oben angeführten Bedingungen. Diese Beobachtung steht allerdings völlig im Widerspruch mit dem, was Jaeger bei seinen Kokken fand, und vor allem auch mit den Untersuchungen von Germano über die Lebensfähigkeit des Coccus Jaeger. Aber auch hier findet Jaeger seinen Ausweg; er bezeichnet einfach unsere Kulturen als — „verpäppelt"! Diese unsere Beobachtung ist auch nicht belanglos für die Epidemiologie der Genickstarre und wird manches in dieser Frage erklären, aber anders — als es Herr H. Jaeger tut. Sie zeigt vor allem, daß der echte Coccus Weichselbaum zu den obligaten Parasiten gehört. Es liegt nicht in unserer Absicht, diese interessante Seite in der Frage der Genickstarre näher zu erörtern. Darauf wird von berufenerer Seite ohnedem anderenorts eingegangen werden.

Soviel als Entgegnung zu den Angriffen Jaegers auf die von uns aufgestellten 7 Merkmale des Microc. mening. cerebrosp. Und nun zum 2. Teil der Arbeit, in welchem Jaeger seine „eigenen" jüngsten Studien am „Coccus Weichselbaum" bespricht!

Läßt uns auch schon der erste Teil von Jaegers Kampfschrift erkennen, welcher Wert seinen Befunden und Untersuchungen beizumessen ist, so finden wir es wenigstens begreiflich, daß Jaeger damit den Versuch unternahm, seine früheren Befunde aufrecht zu erhalten. Schon mit Rücksicht auf sein „Buch" war Jaeger dazu gezwungen. Den 2. Teil der Streitschrift hätte aber Jaeger unter allen Umständen ungeschrieben lassen sollen: Denn damit gibt Jaeger der von ihm so hochmütig behandelten Schule Weichselbaums eine schärfere Waffe in der Hand, als er selbst erwartet hat: Mit diesem Abschnitt seiner Arbeit hat H. Jaeger uns gezeigt, wie kritiklos sein bakteriologisches Arbeiten ist, und damit hat er uns auch die Erklärung zu den Differenzen in den Resultaten unserer beiderseitigen Untersuchungen gegeben. Jaeger unternahm es in diesem 2. Teile seiner Arbeit, durch Mitteilung neuer vergleichender Untersuchungen seine früheren Behauptungen zu stützen und verwendete für diese Untersuchungen 9 Stämme verschiedener Provenienz, darunter 3, die einer „authentischen" Kultur des Coccus Weichselbaum entstammen sollen. Diese 3 Stämme betrachtet Jaeger als Varietäten des „rasseechten" Diploc. mening. Weichselbaum und gelangte in folgender Weise in ihren Besitz:

Er ersuchte Prof. Weichselbaum um Ueberlassung einer Kultur seines Diploc. intrac. mening. Die daraufhin übersendete Kultur, die von einem lebenskräftigen Stamme frisch abgeimpft worden war, traf jedoch angeblich in Königsberg zu einer Zeit ein, als Jaeger gerade in Berlin weilte, und erwies sich nach seiner Rückkehr bereits als abgestorben (April 1901). Nach dem Erscheinen unserer Arbeit (Oktober 1901) wendete sich Jaeger nunmehr an Král in Prag (Februar 1902), und erhielt von diesem zunächst eine Kultur, die sich gleichfalls „als abgestorben" erwies. Eine von Král übersendete 2. Kultur, die, frisch abgeimpft, 22 Stunden im Brutofen geweilt hatte, erhielt Jaeger Ende Februar 1902 zugleich mit einem Schreiben, in welchem Král aufmerksam macht, daß die Lebensfähigkeit des übersendeten Stammes bei niederer Temperatur sehr rasch erlösche.

Von dieser 2. Králschen Kultur wurden Abimpfungen auf Agar, Glycerinagar, Bouillon, Löfflersches Serum und auf Pleuraexsudat gemacht. Von diesen Abimpfungen blieben alle „steril bis auf 2, nämlich diejenige auf erstarrtem Pleuraexsudat und die auf Löfflers Serum. Aber auch auf diesen beiden Nährsubstraten zeigten sich erst nach 4 Tagen spärliche Kolonieen". Und nun fährt Jaeger unmittelbar anschließend wörtlich folgendermaßen fort: „Als nach 8 Tagen noch immer alles steril geblieben war" — Jaeger hatte inzwischen vergessen, daß 2 seiner erst abgeimpften Kulturen Wachstum gezeigt hatten — „wurden von der von Král bezogenen Originalkultur nochmals Abimpfungen auf Bouillon und auf erstarrtes Menschenblutserum vorgenommen". Auf dem letzteren gingen daraufhin „schon nach 24 Stunden zahlreiche, aber noch sehr zarte Kolonieen" an, und auch in der Bouillon zeigte sich diesmal „etwas Wachstum, wenn auch noch sehr kümmerlich". Neue Abimpfungen von der auf Menschenblutserum angelegten Kultur auf Bouillon, Glycerinagar, Glycerinserum, Pleuraexsudat und menschliches Blutserum zeigten nunmehr schon nach 24 Stunden fast durchaus üppiges oder gutes Wachstum. Der Weiterzüchtung bot sich von nun ab keine Schwierigkeit mehr, weshalb Jaeger die sowohl von Weichselbaum als auch von Král gegebene Mahnung, die Kulturen im

Brutschranke zu halten, außer acht lassen konnte. Damit war für Jaeger der Beweis erbracht, daß es sich „bei dem echten Coccus Weichselbaum um künstlich „verpäppelte“ Kulturen handle“ (!!).

Dadurch war Jaeger in den Besitz „lebenskräftiger Kulturen“ gelangt, die nunmehr gegen „Kälte und Zug“ abgehärtet waren. Damit aber noch nicht zufrieden, suchte Jaeger die Lebensfähigkeit der gewonnenen Kulturen noch weiter zu kräftigen „durch Darbietung reichlicher Flächen von Nährsubstrat und reichlichen Sauerstoffes“. Er griff deshalb nochmals zum Plattenverfahren, erhielt dadurch zunächst 2 und später — nach wiederholter Plattenaussaat — sogar 3 Varietäten der „Weichselbaum-Kultur“, die er folgendermaßen bezeichnet:

1) Weichselbaum-Staphylokokkentypus dick,
2) „ „ zart,
3) „ Streptokokkentypus.

Während 1) und 2) teils „dicke, weiße Kolonieen von lackartigem Glanze“, teils „zarte, schleierartige, kreisrunde“ bildeten, die aus „Diplokokken und Tetraden in staphylokokkenähnlichen Haufen“ bestanden mit dazwischen gelagerten „zahlreichen, besonders großen Kokkenpaaren“, zeigte Typus 3 „gewellte Kolonieen“, die aus „typischen Doppelketten“ bestanden, „wie ich sie schon 1895 gesehen und photographisch abgebildet habe“.

Später ging „die Ausbildung der Doppelketten immer mehr zurück, so daß sich völlig das Bild gewöhnlicher Streptokokken entwickelt zu haben schien, würde nicht sehr häufig das Ende der Ketten sich in ein Konvolut von Tetraden übergehend gezeigt haben, die oftmals in größere, staphylokokkenähnliche Häufchen sich zusammenlegten“. Dieser Stamm 3 behielt auch weiterhin seinen „Streptokokkentypus“ bei und bildete „lange Ketten“.

Die obengenannten 3 Stämme bezw. Varietäten benützt nun Jaeger für seine „Studien“ am „Coccus Weichselbaum“ gleichzeitig mit anderen Stämmen. Jaeger nennt in seinen diesbezüglichen Ausführungen die 3 erhaltenen „Varietäten“ unser „eigenes“ Material, die Kultur, der sie entstammten, wiederholt eine „authentische“ des Coccus Weichselbaum.

Gegen ein derartiges Vorgehen müssen wir selbstverständlich zunächst energisch Einsprache erheben. Wenn auch diese „3 Varietäten“, die Jaeger erhalten haben will, einer Kultur entstammten, die von Král bezogen war, und wir kein Recht haben zu zweifeln, daß diese Kultur als eine reine und echte Weichselbaumsche in die Hände des Herrn Jaeger gelangt war, so ist Jaeger doch niemals berechtigt, von einer „authentischen“ Kultur zu sprechen und die daraus in der oben geschilderten Weise erhaltenen 3 Stämme resp. Varietäten als unser „eigenes“ Material hinzustellen!

Die 3 Varietäten Jaegers hätten wir aber auch dann niemals gelten lassen, wenn die Kultur, die er verwendete, eine wirklich „authentische“ gewesen wäre: denn eine Untersuchungsmethode, die nur darin bestand, daß einfach kritiklos immer wieder abgeimpft wurde, wird wohl niemand als zulässig erklären können. Und deshalb sind auch die Resultate, welche Jaeger damit erhielt — es tut uns leid, es sagen zu müssen — nicht mehr ernst zu nehmen.

Mit dem Coccus Weichselbaum haben die „3 Varietäten“ Jaegers nichts zu tun, sie sind jedenfalls Verunreinigungen!

Für uns entfällt damit die Aufgabe, die Untersuchungsergebnisse, welche Jaeger mit diesen 3 Stämmen bei seinen „eigenen“ Studien am „Coccus Weichselbaum“ erhielt, weiterhin sachlich zu erörtern! Hervorgehoben sei nur noch, daß diese Resultate seiner jüngsten Untersuchungen auch mit seinen eigenen früheren vielfach im Widerspruche stehen!

Da sich nun nach Jaeger mit diesen Untersuchungsergebnissen im allgemeinen auch die decken, welche er mit den noch verwendeten anderen 6 Stämmen erhielt, so begingen wir keinen Fehler, wenn wir schon von vornherein auch diesen 6 anderen Stämmen die Identität mit dem Coccus Weichselbaum absprechen würden. Ueberdies kennen wir die von ihm benützten Stämme 4 und 5, d. i. einen Abkömmling seiner Stuttgarter Kulturen und eine von Král bezogene Kultur seiner Kokken sehr genau, da wir selbst gerade diese Stämme von Jaegers Kokken besitzen. Daß Jaeger damit andere Resultate erhielt, als wir mit dem echten Coccus Weichselbaum, wundert uns gar nicht! Im Gegenteil! Wir waren ja diejenigen, die Jaeger zuerst darauf aufmerksam gemacht haben, daß sein Coccus etwas anderes sei als der von Weichselbaum gefundene! Die 3 Stämme von Plagge aus Darmstadt (Stamm 6—8) kennen wir selbst zwar nicht; wenn sie jedoch alles das zeigen, was Jaeger bei seinen „Studien“ fand, so sind sie eben nicht identisch mit dem Coccus Weichselbaum, weil dieser niemals diese Eigentümlichkeiten besitzt. Und dasselbe gilt auch von dem 9. der zu seinen „Studien“ verwendeten Stämme, den er aus einem „Berliner Falle“ isoliert hatte.

Wir können uns nun kurz fassen. Die 3 Schlußpunkte, die Jaeger aus seinen neuen Untersuchungen zieht, haben keine Gültigkeit. Denn Jaeger hat bei seinen Untersuchungen mit keinem echten Coccus Weichselbaum gearbeitet. Es haben daher auch seine Bemerkungen über das schwankende Verhalten des Diploc. mening. intrac. Weichselbaum der Gramschen Methode gegenüber, über das Auftreten von langen Ketten und über dessen Resistenz gegen Eintrocknung und Kälte keinerlei Wert. Wohl aber hat Jaeger mit diesen seinen neuen Untersuchungen endgültig bewiesen, daß er den echten Coccus Weichselbaum überhaupt nicht kennt — wenigstens in den Kulturen nicht. —

Durch diese neuen Untersuchungen Jaegers werden uns nun die vielen Widersprüche verständlich, welche seine einzelnen Arbeiten über den Erreger der epidemischen Genickstarre enthalten.

Dadurch wird es uns aber auch verständlich, warum Jaeger alles, was in der Literatur über diesen Coccus niedergeschrieben ist, ohne Kritik zusammenträgt. Je differenter, je widersprechender die Angaben sind, um so passender erscheinen sie Jaeger, um so beweisender sind sie für die Fähigkeit dieses Bakterium: „Ewas zu variieren“. Nur einmal steigen Jaeger in seiner Monographie Bedenken über die Einheitlichkeit der in der Literatur beschriebenen „Meningokokken“ auf. Er sagt nämlich auf p. 126 dieser seiner Monographie: „Bei der ersten Betrachtung dieser Tabelle wird man den Eindruck erhalten, daß hier doch ganz außerordentlich große Unterschiede sich bemerklich machen, welche Zweifel aufkommen lassen könnten, ob es berechtigt sei, diese Mikroorganismen als einheitliche Gruppe aufzufassen.“ H. Jaeger hätte gut daran getan, diese Zweifel nicht mehr zu unterdrücken!

Ist es für uns nunmehr auch sicher, daß H. Jaeger mit dem echten Coccus Weichselbaum nicht gearbeitet habe, so erscheint doch die Frage nicht unwichtig, ob die Fälle von Cerebrospinalmeningitis, aus denen Jaeger seine verschiedenen Stämme erhalten hatte, solche waren, die denen entsprechen, welche Weichselbaum und seine Anhänger zu beobachten Gelegenheit hatten. Als nicht vollständig beweisend werden wir selbstverständlich alle diejenigen Fälle anzusehen haben, bei denen keine Sektion vorliegt. Man mißverstehe uns dabei aber nicht! Wenn wir auch die Bedeutung der klinischen Beobachtung recht gut zu würdigen wissen, so erscheint es uns doch notwendig, bei so grundlegenden Untersuchungen die pathologisch-anatomische Beobachtung als das einzig Maßgebende anzusehen.

Ueber Sektionsbefunde teilt Jaeger aber nur in seiner ersten Arbeit einiges mit, später nicht mehr. Und in dieser Arbeit beschreibt Jaeger in den Ausstrichpräparaten allerdings Kokken, die morphologisch mit dem Coccus Weichselbaum übereinstimmen, nur sind sie Gram-positiv. In seiner Monographie dagegen zitiert Jaeger auf p. 126 eine Notiz aus seinen damaligen Aufzeichnungen, die also lautet: „13. Febr. 1893. Bei Anwendung der Gramschen Färbung entfärben sich die intracellulären Diplokokken der Gewebsausstriche“. Da nun sowohl Weichselbaum als auch alle, die mit ihm übereinstimmen, über gleichmäßig prompte Entfärbung des Microc. mening. cerebrosp. berichten — sowohl in den Ausstrichpräparaten als auch in Kulturpräparaten als endlich in Gewebsschnitten — so ist anzunehmen, daß Jaeger entweder ätiologisch verschiedene Formen untersucht hat, darunter auch solche, die mit den von Weichselbaum beobachteten übereinstimmen, oder daß die Färbungstechnik Jaegers eine ungleichmäßige war. Schließlich können diese beiden Möglichkeiten auch vereint vorgelegen haben. Für diese letztere Annahme sprächen zunächst die Ungleichmäßigkeit in den Angaben über die Ausführung der Gramschen Methode, und der uns durch die letzte Arbeit Jaegers gewährte Einblick in seine Arbeitsmethode, sowie die in Tab. II auf p. 363 der Arbeit vom Jahre 1895 aufgezeichneten Befunde. Und mit Rücksicht auf diese Befunde haben wir auf p. 20 unserer Arbeit vom Jahre 1901 absichtlich von nur 10 Beobachtungen gesprochen und nicht von 14, da wir die Fälle 2, 3, 5 und 14 unter keinen Umständen anerkennen. Dafür haben wir in der Einleitung unserer Arbeit auf p. 3, solange wir noch keine Kritik übten, durch Angabe der Zahl 14 gezeigt, daß wir gar wohl wußten, Jaeger stütze seine Ausführungen auf angeblich 14 Fälle. Wenn Jaeger nunmehr damit, daß er in seinem uns gewidmeten Kampfartikel sagt: „(nicht 10, wie die Verff. fälschlich angeben!)“ uns der Oberflächlichkeit zeihen will, so irrt er sich auch darin. Es geschah mit Absicht!

Wirkliche Verwirrung brachten erst Jaegers kulturelle Untersuchungen, da es ihm nicht gelungen war, den echten Coccus Weichselbaum zu züchten. Und daraus entwickelten sich die Verschiedenheiten in den Angaben bei Jaegers eigenen Befunden und bei denen einer Reihe späterer Autoren, die sich noch steigerten, als in vielen Fällen wirklicher oder vermeintlicher Genickstarre die Untersuchungen sich nur mehr auf die durch Lumbalpunktion gewonnene Flüssigkeit beschränkten. Vor allem aber wurden durch das sogenannte „Anreicherungsverfahren“ — sei es in der durch die Lumbalpunktion erhaltenen Flüssigkeit selbst, sei es im Kondenswasser von schief gelegtem Agar oder in Bouillon — bei der epidemischen Genickstarre

Kokkenformen „herausgezüchtet“, die weder mit dieser Erkrankung noch mit Meningitis überhaupt etwas zu tun haben. Wir haben übrigens darauf auch schon in unserer Arbeit vom Jahre 1901 hingewiesen.

Wir sind am Schlusse unserer Ausführungen. Die Vorliebe Jaegers für Vergleiche war wohl der Grund, daß Jaeger seinen Kampfartikel gegen uns mit nachfolgenden Worten schloß: „Wo bleibt nun unter allen diesen zahlreichen Typen der echte Stamm? — Die Weisheit Nathans, wie sie sich im Gleichnisse von den drei Ringen ausspricht, scheint der Schule Weichselbaums abhanden gekommen zu sein!“ —

Es würde uns nicht schwer fallen, auf diesen Vergleich in entsprechender Weise zu antworten. Allein wir unterlassen dies, weil solche Gleichnisse nach unserer Ansicht in einer wissenschaftlichen Diskussion unpassend sind und auch von wenig Geschmack zeugen.

---



# Ueber die literarischen Schicksale des „Diplococcus intracellularis meningitidis“ und seine ätiologische Bedeutung.

Von **A. Weichselbaum** in Wien.

Es ist nicht ohne Interesse, die Schicksale zu verfolgen, welche dem „Diplococcus intracellularis meningitidis“ in der bakteriologischen Forschung im Verlaufe der Zeit beschieden waren. Auf der einen Seite wollte man seine Existenz überhaupt gar nicht anerkennen oder ihn höchstens als eine „vorübergehende Erscheinungsform“ des Diplococcus pneumoniae (Lubarsch), oder als einen entarteten Abkömmling des letzteren (Netter) gelten lassen, während man auf der anderen Seite ihm eine Fülle von so differenten Eigenschaften und Leistungen zuschrieb, daß er als einer der variabelsten Mikroorganismen erscheinen mußte. Daß auch um die Priorität seiner Entdeckung und Erforschung gekämpft wurde, darf wohl weniger wundern, weil diese Erscheinung auch in der Geschichte anderer Mikroparasiten beobachtet werden kann.

Ich hatte im Jahre 1887 in einer Arbeit: „Ueber die Aetiologie der akuten Meningitis cerebrospinalis“ [1]) mitgeteilt, daß ich in 2 Fällen der genannten Krankheit den Diplococcus pneumoniae als Erreger nachzuweisen im stande war, einen Coccus, welchen schon vorher sowohl andere Forscher (A. Fraenkel, Foà und Bordoni-Uffreduzzi) als auch ich bei der genannten Krankheit gefunden hatten, daß ich aber in 6 anderen Fällen von primärer Meningitis cerebrospinalis eine ganz andere, vom Dipl. pneum. vollkommen verschiedene Bakterienart vorfand, welche ich wegen ihrer Anordnung und intracellularen Lagerung „Diplococcus intracellularis meningitidis“ nannte. Ich hatte diesen Coccus mit den damals zur Verfügung

1) Fortschritte der Medizin. Jahrgang. V. 1887.

stehenden Untersuchungsmethoden nach allen Richtungen hin, also in morphologischer, kultureller und tierpathogener Beziehung studiert und dementsprechend auch beschrieben, und war zu der Schlußfolgerung gelangt, daß man ihn in den betreffenden Fällen von Meningitis mit sehr großer Wahrscheinlichkeit als den Krankheitserreger ansehen müsse.

Auf Grund meiner damaligen Untersuchungen und unter Berücksichtigung der Literatur sprach ich mich zugleich auch über die Aetiologie der Mening. cerebrospin. im allgemeinen, und zwar dahin aus, daß wir vorläufig 2 verschiedene Bakterienarten kennen, welche im stande sind, eine primäre akute Mening. cerebrospin. hervorzurufen, nämlich den Diplococcus pneumoniae und den Diplococcus intracellularis meningitidis.

„Ob auch die epidemische Form der Mening. cerebrospin.,“ setzte ich hinzu, „durch eine der beiden Bakterienarten verursacht werde, lasse sich freilich noch nicht mit Sicherheit beantworten, da die bisherigen, verwertbaren Untersuchungen bloß sporadische Fälle von Mening. cerebrospin. betrafen“. Bezüglich des Dipl. pneum. lag zwar damals schon eine Angabe von Foà und Bordoni-Uffreduzzi[1]) vor, derzufolge sie dieses Bakterium bei einer Epidemie von Mening. cerebrospin. gefunden hatten; da es aber nur 2 sichere Fälle von primärer Meningitis waren, in welchen dieser Befund gemacht worden war, und die genannten Forscher über die Größe der Epidemie keine Angaben gemacht hatten, so konnte man noch immer zweifeln, ob es sich in den eben erwähnten Fällen wirklich um eine epidemische Form von Mening. cerebrospin. gehandelt hatte. Auch bezüglich der Frage, ob jene meiner Fälle, in welchen der Dipl. intrac. mening. vorhanden war, bereits einer Epidemie angehörten, oder ob sie noch als sporadische aufzufassen seien, glaubte ich mich damals recht vorsichtig aussprechen zu sollen. Ich hatte zwar ausdrücklich angeführt, daß im Jahre 1886, in welchem einer meiner 6 Fälle zur Sektion gekommen war, in Wien „sowohl im Allgemeinen Krankenhause als auch außerhalb der Spitäler einzelne Fälle von Mening. cerebrospin. vorkamen und in Mailberg in Niederösterreich sogar eine große Epidemie herrschte“; aber bei der Unmöglichkeit einer mathematisch genauen Fixierung jener Zahl von Erkrankungen, welche an einem Orte innerhalb eines gewissen Zeitraumes vorkommen müssen, um mit Sicherheit von einer Epidemie sprechen zu können, glaubte ich damals, die von mir untersuchten Fälle vorsichtshalber als sporadische auffassen zu sollen.

Später erfuhr ich aber, daß im Jahre 1885, in welchem 3 meiner Fälle zur Sektion gekommen waren, auch in einem Kinderspitale Wiens 7 Fälle von Mening. cerebrospin. beobachtet worden waren, so daß ich jetzt der Ansicht bin, daß man die in dem Zeitraume von 1885—1887 in Wien vorgekommenen Erkrankungen an Mening. cerebrospin. mit demselben Rechte einer Epidemie zuzählen kann, wie es beispielsweise später Jaeger[2]) bezüglich der in der Garnison Stuttgart in den Jahren 1893 und 1894 vorgekommenen Erkrankungen an Mening. cebrebrospin. getan hatte. War also durch meine Untersuchungen bewiesen worden, daß in den von mir beschriebenen Fällen von Meningitis der Dipl. intrac. die Krankheitsursache bildete, so ist, da diese Fälle als zu einer Epidemie gehörig aufzufassen sind, hiermit zugleich bewiesen worden,

1) Deutsche mediz. Wochenschr. 1886 und Giorn. d. R. accad. di med. 1886.
2) Zeitschrift für Hygiene. Bd. XIX. 1895.

daß dieser Coccus als Erreger der epidemischen Form der Mening. cerebrospin. auftreten kann.

Noch im selben Jahre konnte der von mir zuerst genauer studierte und beschriebene Dipl. intrac. von Goldschmidt[1]) in einem Falle von primärer Mening. cerebrospin. wiedergefunden werden. Die Beschreibung, welche dieser Autor über das Verhalten dieses Coccus gab, stimmte vollständig mit meiner Beschreibung überein. Nur beobachtete er auch auf Kartoffeln ein Wachstum, was ich seinerzeit nicht gesehen, später aber ebenfalls bestätigen konnte; daß ich bei meinen ersten Untersuchungen kein Wachstum auf Kartoffeln bemerkte, ist wohl nicht zu verwundern, da wir ja wissen, wie unzuverlässig die Kartoffeln für das Wachstum gewisser Bakterienarten sind, und ich offenbar bei meinen damaligen Untersuchungen zufällig nur solche Kartoffeln zur Verfügung hatte, welche für das Wachstum des Dipl. intrac. ungeeignet waren.

Wenn ich früher sagte, daß der eben genannte Coccus von mir zuerst genauer studiert und beschrieben worden war, so kann ich mich wohl zu diesem Ausspruche für berechtigt halten. Ich hatte zwar schon in meiner früher zitierten Arbeit angeführt, daß Leichtenstern[2]) bei einer Epidemie von Mening. cerebrospin. in Köln in 9 Fällen im meningitischen Exsudat spärliche „Herde" von Kokken vorfand, welche teils innerhalb von Eiterzellen, teils frei vorkamen, daß er aber in Kulturen auf Agar und Gelatine verschieden gestaltete Bacillen und Kokken erhielt, wobei er nur den letzteren, die aber teils als große, teils als sehr kleine Kokken auftraten, eine größere Bedeutung zuschrieb. Es ist nun nicht unwahrscheinlich, daß die von Leichtenstern in Deckglaspräparaten gesehenen Kokken tatsächlich dem Dipl. intrac. entsprachen, während aber von seinen Kulturen das Gleiche nicht gesagt werden kann.

Auch von Marchiafava und Celli[3]) liegt ein Befund vor, nämlich der mikroskopische Nachweis von Kokken im Protoplasma von Leukocyten und Endothelien in 2 Fällen von epidemischer Mening. cerebrospin., welcher es nicht unwahrscheinlich macht, daß die von diesen Autoren gesehenen Kokken, wenigstens jene, welche in Leukocyten lagen, mit dem Dipl. intrac. identisch waren. Aber weder die zuletzt genannten Forscher noch Leichtenstern werden behaupten, daß sie den Beweis für die ätiologische Bedeutung der von ihnen gesehenen Kokken für die Mening. cerebrospin. erbracht hatten.

Während man bezüglich der eben angeführten Beobachter die Möglichkeit, ja selbst die Wahrscheinlichkeit zulassen kann, daß sie tatsächlich schon den Dipl. intrac. gesehen hatten, muß aber der Behauptung v. Leydens und Goldscheiders[4]), daß unter den von v. Leyden in einem Falle von sporadischer Mening. cerebrospin. gesehenen und in seiner Arbeit: „Die Mikrokokken der Cerebrospinalmeningitis" (Centralbl. f. klin. Med. 1883) abgebildeten Kokken auch der Dipl. intrac. zu erkennen sei, widersprochen werden. Wenn auch v. Leyden in der eben zitierten Arbeit sagt, daß er die in seinem Falle von Meningitis gefundenen Kokken mit Wahrscheinlichkeit für verschieden von den Pneumokokken halten möchte, so zeigt doch ein Blick auf die Abbildung, daß diese Kokken in Form und Anordnung ganz und gar dem Dipl. pneum. entsprechen; auch jene

1) Centralblatt für Bakteriologie. Bd. II. 1887.
2) Deutsche medizinische Wochenschrift. 1885.
3) Gazz. d. osp. 1884.
4) Nothnagels spezielle Pathologie und Therapie. Bd. X. I. Teil. Wien. 1897.

Diplokokken auf der Abbildung, in welchen der eine Coccus auffallend klein und der andere auffallend groß ist, gehören nicht dem Dipl. intrac., sondern sicherlich dem Dipl. pneum. an, und sind nur als Degenerationsformen des letzteren zu bezeichnen.

Im Jahre 1888 teilte ich in einer Arbeit: „Ueber seltenere Lokalisationen des pneumonischen Virus“ [1]) mit, daß ich den Dipl. intrac. noch in 3 weiteren Fällen von Mening. cerebrospin. auffinden konnte; in derselben Arbeit erklärte ich es, obwohl mir damals die früher erwähnten 7 Fälle von Mening. cerebrospin. in einem Kinderspitale Wiens aus dem Jahre 1885 noch nicht zur Kenntnis gekommen waren, für nicht unwahrscheinlich, daß der genannte Coccus auch Epidemien von Mening. cerebrospin. hervorrufen könne.

Dasselbe Jahr brachte auch eine Mitteilung von Guarnieri [2]), in welcher die Bemerkung vorkommt, daß er in 2 Fällen von Mening. cerebrospin. im Exsudat gonokokkenähnliche, innerhalb von Leukocyten gelegene Diplokokken aufgefunden hatte, ganz von dem Aussehen wie der von mir beschriebene Dipl. intrac.; da aber seine mit diesen Kokken angestellten Kultur- und Tierversuche negativ blieben, so erklärte er es nicht für wahrscheinlich, daß dieselben mit dem Dipl. intrac. identisch seien.

Aus dem Jahre 1889 kann bloß angeführt werden, daß Netter [3]) in einer Arbeit über Meningitis erwähnt, er habe unter 25 Fällen von teils primärer, teils sekundärer Meningitis zweimal einen intracellulär gelegenen Diplococcus gefunden, welchen er trotz mißglückter Kulturversuche für den Dipl. intrac. hielt.

Im folgenden Jahre referierte Bordoni-Uffreduzzi [4]) über eine von Bonome veröffentlichte Arbeit, in welcher letzterer über einen besonderen Erreger der Mening. cerebrospin. Mitteilung gemacht hatte. Bordoni-Ufreduzzi sprach sich in seiner Kritik mit Recht dahin aus, daß der Streptococcus der „Mening. cerebrospin. epidemica“ Bonomes sehr wahrscheinlich nur eine Varietät des Dipl. pneum. sei, behauptete aber bei dieser Gelegenheit sonderbarerweise das Gleiche bezüglich des Dipl. intrac., obwohl ihn eine nur etwas aufmerksamere Lektüre meiner diesbezüglichen Arbeit hätte belehren müssen, daß zwischen dem letzgenannten Coccus und dem Dipl. pneum. nicht einmal eine entfernte Aehnlichkeit besteht, und die Differenz zwischen beiden im allgemeinen ebenso groß ist, wie etwa zwischen dem Gonococcus und dem Pneumoniecoccus.

Im Jahre 1895 erschien eine Arbeit von Jaeger [5]), welcher während einer Epidemie von Mening. cerebrospin. in mehreren Garnisonen Württembergs bakteriologische Untersuchungen angestellt hatte, und zwar sowohl an einem von 12 Sektionen stammenden Material als auch in 2 in Genesung ausgegangenen Fällen an dem pneumonischen Sputum, bezw. an dem Harne eines dieser letzteren Kranken. In allen diesen Fällen behauptete er, den Dipl. intrac. nachgewiesen zu haben, wobei freilich in mehreren Fällen seiner Angabe zufolge der Nachweis erst durch das Kulturverfahren gelungen war.

Die Untersuchungen Jaegers müssen aber als unvollständig und

1) Wiener klin. Wochenschr. 1888.
2) Atti d. R. accad. med. di Roma. 1888.
3) France méd. 1889.
4) Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. p. 188.
5) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIX. 1895.

mangelhaft bezeichnet werden, da sie erstlich bezüglich des morphologischen Verhaltens der von Jaeger gefundenen Kokken über eine von mir angegebene, sehr auffällige Eigentümlichkeit des Dipl. intrac., nämlich ungleich große und ungleich stark färbbare Kokken zu bilden, mit Stillschweigen hinweggehen, da sie ferner in kultureller Beziehung bloß in dem Studium des Wachstums auf einem einzigen Nährboden, auf Glycerinagar, bestanden — nur an einer Stelle der Arbeit heißt es, daß „jüngst eine Kultur bei großer Sommerhitze auf Gelatine im Zimmer weiter gewachsen ist“ — und da sie auch in experimenteller Beziehung dem eigenen Ausspruche Jaegers zufolge „nach Zahl und Auswahl der Tiere wie des Infektionsmodus dürftig waren“. In letzterer Beziehung ist noch hervorzuheben, daß Jaeger mit den Kulturen seiner Kokken bei weißen Mäusen zwar wiederholt subkutane, aber niemals intraperitoneale Infektionen machte, obwohl nach meinen Angaben gerade letztere ein charakteristisches Resultat geben, während erstere stets erfolgslos bleiben.

Auch über das Verhalten der einzigen Art von Kulturen, welche Jaeger angelegt hatte, nämlich der Kulturen auf schiefem Glycerinagar, sind die Angaben ziemlich dürftig; wir erfahren nur, daß zuerst sehr kleine Kolonieen entstanden, welche nach 48 Stunden voll entwickelt waren und feine, schleierartige Auflagerungen darstellten, und daß diese Kulturen, wenn sie mehrmals auf neues Nährsubstrat übertragen wurden, in ihrem Wachstum bald üppiger wurden, „so daß die Nährfläche nach 2-tägigem Wachstum von einem Kulturrasen größtenteils überzogen war“.

Die Resultate der Untersuchungen Jaegers weichen, wie wir später noch zeigen werden, sowohl von jenen ab, welche ich und Goldschmidt erhalten hatten, als auch von den Resultaten aller jener Forscher, welche später mit einem einwandfreien Material und mit verläßlichen Methoden gearbeitet hatten, und zwar in den gleichen, wesentlichen Punkten.

Die Untersuchungsresultate Jaegers erregen aber schon, wenn man sie nur an und für sich in Betracht zieht, Bedenken und stehen zum Teile untereinander in Widerspruch; ich stütze diese Behauptung auf folgende, von Jaeger selbst angeführte Tatsachen:

1) Jaeger gibt an, daß die von ihm gefundenen Kokken in Ausstrichpräparaten nach Gram gefärbt blieben, während sie in Schnitten bei dieser Methode sich entfärbten, ein Verhalten, das zum mindesten als ein sehr auffälliges bezeichnet werden muß.

2) Bei den Fortzüchtungsversuchen der Kulturen blieb einmal eine Kultur beim Ueberimpfen auf Agar nach 17 Tagen aus, wuchs aber nach 43 Tagen, auf Bouillon übertragen, wieder an, ein Verhalten, welches ebenfalls ein sehr kurioses genannt werden muß.

3) Während die „Reinkulturen“ immer zu zweien oder in Tetraden angeordnete Kokken zeigten, enthielten sie in 2 Fällen auffallend lange Ketten von 20—30 Exemplaren, so daß Jaeger anfangs geneigt war, zu glauben, den Pneumococcus Fraenkel vor sich zu haben. Diese Meinung wurde aber nach der Angabe Jaegers dadurch widerlegt, daß in einem Falle die Bildung langer Ketten „erst in denjenigen Kulturen zum Ausdruck kam, welche aus einem mit Reinkultur geimpften Meerschweinchen gewonnen waren, nachdem vorher in den aus der Leiche (des Menschen) gezüchteten Kulturen nur regellose Haufen und kurze Kettchen sich entwickelt hatten“. Auch dieses Verhalten dürfte kaum eine Analogie bei Reinkulturen anderer Bakterienarten finden.

4) Jaeger führt in den Tabellen I und II an, daß er bei 2 Meningitiskranken im rostfarbigen Sputum und bei einem dieser Kranken auch im Harnsedimente den Dipl. intrac. gefunden habe; da aber diese nackte Angabe jeder weiteren Begründung entbehrt — bezüglich des Harnsedimentes wird bloß angeführt, daß in demselben „Leukocyten mit Diplokokken“ gefunden wurden — so muß sie als wertlos bezeichnet werden. Das Gleiche gilt für Jaegers Angabe, daß er in einem Falle auch in den Peyerschen Plaques und Solitärfollikeln den Dipl. intrac. nachweisen konnte.

5) Vom Falle 5 in der Tabelle I wird angegeben, daß Jaeger im meningitischen Exsudat den typischen Pneumococcus Fraenkel fand, und daß er, nachdem er die aus diesem Exsudat gewonnene Reinkultur einer weißen Maus intraperitoneal und einer anderen weißen Maus subkutan eingeimpft hatte, auch in den Organen dieser Mäuse den typischen Pneumococcus nachweisen konnte. Da aber an diesen Fall sich fast unmittelbar eine Meningitisepidemie in Ludwigsburg anschloß, bei welcher nur der Dipl. intrac. „die Situation beherrschte“, so wurde Jaeger stutzig und unterwarf nun die vom Fall 5 aufbewahrten Präparate einer erneuerten Durchmusterung, und siehe da, er konnte jetzt in einem Präparat von einer „vermeintlich reinen Kultur von Pneumococcus Fraenkel zwischen den typischen Ketten dieser Bakterienart Häufchen und besonders Tetraden der breiten Semmelformen des Dipl. intrac. finden. Es war also klar, daß man es hier mit einer Mischinfektion oder Sekundärinfektion durch den Pneumococcus Fraenkel zu tun hatte.“

Wie ist nun der offenbare Widerspruch in den eben angeführten Angaben zu erklären? Zuerst spricht Jaeger von einer „Reinkultur“, und dann wird aus derselben eine „vermeintlich reine Kultur“, welche zweierlei Bakterienarten enthält! Jedenfalls eine sehr wenig Vertrauen erweckende Beobachtung, aus welcher nie und nimmer gefolgert werden darf, daß im Falle 5 wirklich eine Mischinfektion bestanden hatte!

6) Vom Falle 11 in der Tabelle I heißt es, daß eine weiße Maus mit dem Pia-Exsudate und eine zweite Maus mit der Reinkultur aus diesem Exsudat subkutan geimpft wurde, während in der Rubrik „Bemerkungen“ angegeben ist, daß beide Mäuse mit dem meningitischen Exsudat von der Leiche weg unmittelbar infiziert wurden (also nicht eine dieser Mäuse mit einer Reinkultur); was ist also richtig? Beide Mäuse starben, und ihre Organe zeigten sich „vollgestopft mit derben großen Kapselbacillen“, obwohl, wie wir früher zitiert hatten, wenigstens nach der einen Angabe, eine der beiden Mäuse mit einer Reinkultur infiziert worden war. Jedenfalls wieder eine wenig Vertrauen erweckende Beobachtung oder Beschreibung, deren Qualität auch nicht durch die Angabe (auf p. 367) verbessert wird, daß in den Ausstrichpräparaten vom meningitischen Exsudat der Dipl. intrac. geradezu massenhaft vorhanden war, und sonst keine andere Bakterienart aufgefunden werden konnte, während in den aus dem Eiter angelegten Kulturen die „Kapselbacillen“ so reichlich wuchsen, daß sie „beinahe die zarten Kolonieen des eigentlichen Meningitiserregers überwuchert hätten“ (!). Jaeger schließt auch aus dieser Beobachtung auf eine Mischinfektion in dem betreffenden Falle!

7) Vom Fall 14 der Tabelle II behauptet Jaeger auf p. 367, daß die in Tübingen (vom Assistenten des pathol.-anat. Institutes Dr. Henke) vorgenomme Sektion eine Infektion mit Streptococcus longus er-

geben hatte. Jaeger konnte aber in einigen Tropfen Ventrikelflüssigkeit, welche ihm zugesandt worden, aber schon „stark in Fäulnis“ übergegangen waren, den Dipl. intrac. „in Zellresten liegend“ nachweisen; ein Kultivierungsversuch war nicht gelungen. Nun hat Henke diesen Fall von Mening. cerebrospin. (sowie noch 3 andere Fälle) später literarisch bearbeitet[1]), und aus der betreffenden Arbeit ersehen wir, daß Henke sehr genaue mikroskopische Untersuchungen und Kulturversuche angestellt hatte, aus welchen er den Schluß zieht, daß in dem betreffenden Falle eine Varietät des Dipl. pneum. der Erreger der Meningitis war; andere Mikroorganismen als den eben genannten Coccus konnte er weder in den Ausstrichpräparaten vom meningitischen Exsudat, noch in Kulturen, noch in Gewebsschnitten nachweisen. Wo ist nun die Wahrheit? Jedenfalls war Jaeger nicht berechtigt, zu behaupten, daß bei der Sektion der Streptococcus longus nachgewiesen worden war, und ebensowenig berechtigt, zu behaupten, „daß auch dieser Fall durch den Dipl. intrac. erzeugt war“, und daß letzterer „sich hinter dem beherrschenden Bilde der Streptokokkenseptikämie verborgen habe“ (s. p. 367).

Vom Falle 13 in der Tabelle II sagt Jaeger, daß sich „eine Anzahl von kirschengroßen encephalitischen Abscessen vorfand“ (p. 355), und daß in Gewebsschnitten der Dipl. intrac. freiliegend noch weit reichlicher als innerhalb von Eiterzellen gefunden wurde, und zwar weit in die noch gesunde Gehirnsubstanz vordringend, wo die Kokken meist in ziemlich großen Gruppen beisammenliegend angetroffen wurden (p. 358). Scherer, der Mitarbeiter Jaegers, gibt aber in einem Aufsatze: „Zur Diagnose der Cerebrospinalmeningitis“[2]) bezüglich dieses Falles an, daß ein welschnußgroßer Absceß und 2 haselnußgroße Abscesse vorhanden und in Schnitten durch die Absceßmembran die Diplokokken, wenn auch in spärlichen Exemplaren, nachzuweisen waren.

Abgesehen davon, daß in der Beschreibung dieses Falles zwischen den beiden Autoren keine volle Uebereinstimmung besteht, muß als etwas auffallend hervorgehoben werden, daß Jaeger den Dipl. intrac. in den Gewebsschnitten viel reichlicher frei liegend als innerhalb von Zellen antraf. Auch führt Jäger bei der histologischen Beschreibung der Gewebsschnitte einen Befund an, nämlich das Vorhandensein einer Zelle, in welcher „neben dem ursprünglichen dreilappigen Kerne noch 3 wandständige Kerne“ vorhanden waren, einen Befund, welcher mir, aufrichtig gesagt, ganz unverständlich ist.

Ich glaube, daß die bisher angeführten Stichproben genügen werden, um meinen früher getanen Ausspruch, die Untersuchungsresultate Jaegers müssen, schon an und für sich betrachtet, als bedenklich und untereinander im teilweisen Widerspruche stehend bezeichnet werden, zu rechtfertigen. Hierzu kommt aber noch, daß die Untersuchungen Jaegers weder an einem ganz einwandfreien Materiale, noch mit einwandfreien Methoden durchgeführt wurden. Das Material stammte teils von Sektionen, teils von Kranken. Ersteres, und zwar Gehirnteile und Rückenmark, erhielt Jaeger in 5 Fällen aus Ludwigsburg zugeschickt. Nun weiß jeder, welcher an einem aus der Ferne zugesandten Materiale bakteriologische Untersuchungen vorzunehmen Gelegenheit hatte, wie wenig verwertbar ein solches Material zu sein pflegt. Es gilt dies besonders für

1) Arbeiten aus dem pathol.-anat. Institut in Tübingen. Bd. II. 1896. Heft 2.
2) Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XVII. 1895.

den kulturellen Nachweis des Dipl. intrac., welcher schon unter normalen Verhältnissen auf nicht unerhebliche Schwierigkeiten stößt. Daß in einem Falle das an Jaeger von Tübingen abgesandte Untersuchungsmaterial (Ventrikelflüssigkeit) nach seiner eigenen Angabe bereits „stark in Fäulnis" übergegangen war, wurde schon früher erwähnt. Aber auch sonst muß das von den Sektionen stammende Material, über welches Jaeger verfügte, als ein sehr wenig geeignetes bezeichnet werden, da, wie er selbst hervorhebt, nur in 2 Fällen „eine nennenswerte Eiteransammlung zwischen den Gehirnhäuten", in einem 3. Falle „sehr spärliches, seröses Exsudat" und in allen übrigen Fällen nur „vereinzelte, aus meist sehr derbem fibrinösen Exsudate bestehende Herde" vorhanden waren. Aber selbst in einem der beiden Fälle mit reichlicherem Exsudate konnten in Ausstrichpräparaten von letzterem gar keine Bakterien gefunden werden, so daß also nur 2 Fälle zur Verfügung standen, in welchen das Exsudat reich an Kokken war. Unter diesen befand sich aber ein Fall (Ulan Sw.), von welchem Jaeger anführt, daß bloß ein „sehr spärliches seröses Exsudat" vorhanden war, welcher Befund jedoch in Widerspruch steht mit der Behauptung Jaegers, daß die Menge der vorgefundenen Organismen bei den Fällen mit geringer Exsudatmenge äußerst spärlich gewesen war. Bezüglich des Falles 13 in der Tabelle II muß auch noch bemerkt werden, daß nach der von Scherer in seiner oben zitierten Arbeit gegebenen Beschreibung des Sektionsbefundes es gar nicht sicher ist, ob hier eine primäre Meningitis cerebrospinalis vorgelegen hat. Abgesehen von der Bemerkung Scherers selbst, daß man bei der Sektion geneigt war, die vorgefundene Meningitis als eine tuberkulöse anzusehen, bestanden in dem betreffenden Falle auffallend große Abscesse, welche den Verdacht wachrufen müssen, daß sie nicht im Gefolge der Meningitis, sondern eines anderen Prozesses, etwa einer Entzündung im Mittelrohr, entstanden waren. Da aber über den Befund im letzteren und auch an den Rückenmarkshäuten gar nichts verzeichnet ist, so muß dieser Fall mindestens als ein zweifelhafter hingestellt werden.

Was das von Kranken stammende Material betrifft, welches in Sputum, Harn und Nasensekret bestand, so ist es ohne weiteres klar, daß die aus einem solchen Material gewonnenen Resultate nur dann einen Wert beanspruchen können, wenn zugleich der Beweis erbracht wird, daß bei diesen Untersuchungen alle Fehlerquellen vermieden wurden; von einem solchen Beweise spricht aber Jaeger in seiner Arbeit, wie ich schon oben bemerkt habe, kein Wort.

Daß die Untersuchungen Jaegers, und zwar seine Kulturversuche auch nicht mit einwandfreien Methoden ausgeführt wurden, geht aus seiner Mitteilung hervor, daß „sämtliche Kulturen durch Ausstreichen des Exsudates auf mehrere Röhren mit Glycerinagar hergestellt wurden". Bei dem Umstande nämlich, daß das von Jaeger zu Kulturen verwendete Material, wie ich zuvor gezeigt habe, wenigstens in einer Anzahl von Fällen, sicherlich kein „reines" war, muß die von ihm verwendete Kulturmethode schon im allgemeinen als eine ungeeignete bezeichnet werden, da sie bei dem etwaigen Vorhandensein verschiedener Bakterienarten in dem Ausgangsmateriale kaum oder gar nicht die Möglichkeit der Isolierung und Reinzüchtung der letzteren gewähren konnte. Ganz besonders ungeeignet war sie aber für die Isolierung des Dipl. intrac., weil derselbe häufig an und für sich, wenigstens in den ersten Generationen, auf künstlichen Nährböden gar

nicht oder schlecht gedeiht und bei dem gleichzeitigen Vorhandensein anderer auf künstlichen Nährböden leichter wachsender Keime um so eher in seinem Wachstum unterdrückt wird.

Wie ich schon früher gesagt habe, wichen auch die Untersuchungsresultate Jaegers in mehreren wesentlichen Punkten von jenen ab, welche ich und Goldschmidt gewonnen hatten. Die Abweichungen bestehen darin, daß nach Jaeger

1) der Dipl. intrac. zum Unterschiede von den Gonokokken auch im Zellkerne vorkommt und eine Kapsel erkennen läßt;

2) daß er bei Anwendung der Gramschen Methode in Ausstrichpräparaten vom Exsudate und von Kulturen gefärbt bleibt, während er sich in Gewebsschnitten entfärbt;

3) daß er in Kulturen zweimal lange Ketten von 20—30 Exemplaren bildete, und

4) daß er viel leichter fortzuzüchten ist als der Dipl. pneum.

Trotz dieses abweichenden Befundes und der früher besprochenen Mängel in seinen Untersuchungen stand Jaeger doch nicht an, aus letzteren weitgehende Schlüsse zu ziehen, nämlich daß in allen von ihm untersuchten Fällen der Dipl. intrac. der Krankheitserreger war, wobei aber dreimal eine Mischinfektion mit anderen pathogenen Bakterien bestanden hatte, daß ferner in den bisher in der Literatur beschriebenen Epidemien von Meningitis cerebrospinalis der Dipl. pneum. in einem Teile der Krankheitsfälle bloß „die Bedeutung eines erst sekundär infizierenden Parasiten gehabt habe“, daß „die eigentliche Meningitis epidemica nichts gemein habe mit dem Pneumococcus“, sondern daß sie durch den Dipl. intrac. erzeugt werde, und daß ihre Uebertragung durch das Nasensekret erfolge, da letzteres bei Meningitiskranken regelmäßig den genannten Coccus enthalte, und dieser auch „im getrockneten Zustande haltbar ist“.

Bezüglich des regelmäßigen Vorkommens des Dipl. intrac. im Nasensekrete beruft sich Jaeger noch auf Untersuchungen von Scherer[1]), welcher behauptet, in 18 Fällen von Meningitis cerebrospinalis im Nasensekrete der Kranken den Dipl. intrac. teils mikroskopisch teils kulturell nachgewiesen zu haben, ohne daß er aber bei der Färbung der Ausstrichpräparate die Gramsche Methode anwandte, und ohne daß er die Kulturen näher beschreibt.

Wenn man jedoch die Schlüsse Jaegers näher prüft, so kann man durchaus nicht zugeben, daß sie in seinen Untersuchungen begründet sind. Bezüglich des ersten Schlusses, daß in allen von Jaeger untersuchten Fällen der Dipl. intrac. der Krankheitserreger war, kann ich auf das verweisen, was ich oben über die Fälle 5, 11, 13 und 14 gesagt habe. Auch was den weiteren Schluß betrifft, daß in 3 Fällen eine Mischinfektion bestanden hatte, und daß in einem Teile der sonst in der Literatur beschriebenen und auf alleinige Wirkung des Dipl. pneum. bezogenen Fälle von Meningitis cerebrospinalis der letztgenannte Coccus bloß die Bedeutung eines „sekundär infizierenden Parasiten“ gehabt habe, muß ich auf meine oben über die Fälle 5, 11 und 14 gemachten Bemerkungen hinweisen, abgesehen davon, daß selbst, wenn in diesen Fällen eine Mischinfektion erwiesen worden wäre, daraus noch kein Schluß auf die sonstigen in der Literatur beschrieben Fälle gemacht werden dürfte. Ebensowenig ist der Schluß zulässig, daß „die eigentliche Meningitis epidemica nichts

1) l. c.

gemein habe mit dem Pneumococcus", weil selbst durch die etwaige Richtigkeit der Untersuchungen Jaegers noch nicht die Unrichtigkeit der Untersuchungen anderer Forscher bewiesen wäre. Endlich kann auch der Schluß, daß die Uebertragung der epidemischen Meningitis cerebrospinalis durch das Nasensekret erfolge, auch wenn er an und für sich zulässig wäre, nicht als in den Untersuchungen Jaegers begründet bezeichnet werden, da der Nachweis des Dipl. intrac. im Nasensekrete seitens Jaegers und Scherers durchaus nicht in einwandfreier Weise geschehen war.

Die Arbeit Jaegers übte einen ungünstigen Einfluß auf die späteren bakteriologischen Untersuchungen bei Meningitis cerebrospinalis, namentlich soweit diese von Klinikern an der durch Lumbalpunktion gewonnenen Cerebrospinalflüssigkeit ausgeführt wurden. Diese Untersucher hielten sich nämlich fast ausschließlich an die mangelhaften Angaben Jaegers und begnügten sich, bei ihren Versuchen der Reinzüchtung des Dipl. intrac. Kulturen erhalten zu haben, welche annähernd der vagen und unvollständigen Beschreibung Jaegers entsprachen oder sich nach ihrer Meinung dadurch als echt erwiesen, daß sie bei einem Vergleiche mit einer von Jaeger zur Verfügung gestellten Kultur das gleiche Aussehen boten wie letztere. So kam es, daß sich falsche und einander widersprechende Resultate mehr und mehr häuften und eine stetig zunehmende Verwirrung in der Lehre vom Dipl. intrac. erzeugten. Gefördert wurde diese noch einerseits durch den Umstand, daß namentlich von den Klinikern als Untersuchungsmaterial zumeist nur die durch Lumbalpunktion gewonnene Flüssigkeit benutzt wurde, also ein Material, welches bei den Kulturversuchen schon an und für sich leicht zu Täuschungen führen kann, und andererseits wohl auch durch die Eigentümlichkeit des Dipl. intrac., daß er, wie ich schon früher erwähnte, in den ersten Generationen auf dem von den meisten Untersuchern ausschließlich verwendeten einfachen Agar oder Glycerinagar häufig nicht wächst oder in der Punktionsflüssigkeit, beziehungsweise im Exsudate, sogar schon abgestorben sein kann, während viele andere (fremde) Keime auf dem genannten Nährboden leicht fortkommen können.

Jaeger hatte zwar später (1899 und 1901) einzelne seiner früheren Angaben bezüglich des Dipl. intrac. berichtigt; er sprach nämlich dem genannten Coccus die Bildung einer Kapsel wieder ab[1]) und erklärte ferner, daß er die Bildung langer Ketten nicht mehr beobachtete, weshalb er die von Lehmann gewählte Einreihung dieses Coccus unter die Streptokokken nicht für zulässig halte[2]). An einer anderen Stelle nennt er die Bildung langer Ketten eine Abnormität und bezeichnet die früher von ihm beobachteten 2 Fälle als Kuriosa[3]).

Allein die unrichtigen Angaben Jaegers über die erwähnten zwei Punkte hatten inzwischen schon ihre gläubigen Nachbeter gefunden, und so stoßen wir auch in mehreren jener Arbeiten, welche zunächst auf die früher besprochene Publikation Jaegers folgten, wiederholt auf die Angabe von dem Vorhandensein einer deutlichen Kapsel oder der Bildung langer Ketten.

---

1) Die Cerebrospinalmeningitis als Heeresseuche. Berlin (Hirschwald) 1901. p. 119.

2) Deutsche mediz. Wochenschr. 1899. p. 473. (Hier spricht er nur von 1 Fall, in welchem er seiner Zeit Bildung längerer Ketten beobachtet haben wollte, während es tatsächlich 2 Fälle waren!)

3) Die Cerebrospinalmeningitis als Heeresseuche. Berlin 1901. p. 121.

Unter jenen Forschern, bei welchen sich der Einfluß der mangelhaften Untersuchungen Jaegers geltend gemacht hatte, ist zunächst Heubner[1]) zu nennen. Er war der erste, welcher die durch Lumbalpunktion bei Meningitis cerebrospinalis gewonnene Flüssigkeit bakteriologisch untersuchte, und zwar zunächst in 10 Fällen, wobei er 7mal angeblich den Dipl. intrac. durch Kultur gewinnen konnte. In der Beschreibung der letzteren weicht er aber schon von der Beschreibung Jaegers insofern ab, als er angibt, daß die Agarkultur eine graugelbe, zuweilen auch eine lehmgelbe Farbe und einen lackartigen Glanz bekam, also ein Verhalten zeigte, welches der Staphylococcus darzubieten pflege. Nichtsdestoweniger identifizierte er diese Kultur mit einer von Jaeger behufs Vergleiches zur Verfügung gestellten Kultur. Jaeger bemerkte aber selbst in einer späteren Abhandlung[2]), daß er „lackartige, dicke, porzellanweiße, gelbliche Beläge in unzweifelhaften Reinkulturen“ niemals gesehen habe, und daß diese „stets den Verdacht einer Beimischung von Staphylokokken hervorrufen“.

Heubner berichtete weiter, daß er in 2 Fällen von tuberkulöser Meningitis in der Lumbalpunktionsflüssigkeit, welche ganz klar war, und in der mikroskopisch keine Kokken nachzuweisen waren, durch Kultur ebenfalls den Dipl. intrac. erhielt, freilich nur spärliche Kolonieen, welche für Meerschweinchen und Mäuse nicht virulent waren.

Ein analoges Ergebnis hatte schon etwas früher Holdheim[3]) erzielt, indem er auch in einem Falle von Meningitis, welche bei der Sektion als eine tuberkulöse erkannt worden war, aus der Lumbalpunktionsflüssigkeit, obwohl in dieser mikroskopisch keine Kokken nachgewiesen werden konnten, durch Kultur den Dipl. intrac. erhalten haben wollte. Er dachte aber noch an die Möglichkeit, daß die Punktionsnadel, welche bei einem früheren Falle von Meningitis cerebrospinalis verwendet worden war, durch die Behandlung mit den gewöhnlichen Antisepticis nicht vollständig sterilisiert wurde, und empfahl daher für die Zukunft die Sterilisierung mittels Ausglühens, während Heubner für seine Fälle eine ganz andere Erklärung suchte. Da nämlich auf der Heubnerschen Klinik in der Nasenhöhle gesunder Kinder mehrmals angeblich der Dipl. intrac. gefunden worden war, so hielt es Heubner für denkbar, daß in den früher erwähnten 2 Fällen der zufällig in der Nasenhöhle vorhanden gewesene Dipl. intrac. bei Gelegenheit der tuberkulösen Erkrankung in den Subarachnoidealraum eingeschwemmt worden sei. Die Möglichkeit einer Verunreinigung wies er von sich, obwohl er selbst bei seinem 1. Falle von Meningitis cerebrospinalis in den aus der Punktionsflüssigkeit angelegten Kulturen einen „Diplobacillus“ erhalten hatte, welchen er damals für eine Verunreinigung erklärte; er unterließ es aber, für seine Annahme einer sekundären Infektion den einzigen überzeugenden Beweis beizubringen, welcher in dem gleichzeitigen Nachweise des Dipl. intrac. und der Tuberkelbacillen im meningitischen Exsudate bei der Sektion bestanden hätte.

Der Schlüssel für die Erklärung der sonderbaren Kulturergebnisse Heubners muß jedoch in seiner Kulturmethode gesucht werden, welche

---

1) Deutsche mediz. Wochenschr. 1896 u. 1897, und Jahrbuch f. Kinderheilkunde. N. F. Bd. XLIII.

2) Die Cerebrospinalmeningitis als Heeresseuche. Berlin 1901. p. 136.

3) Deutsche mediz. Wochenschr. 1896.

noch weniger einwandfrei war als jene Jaegers. Sie bestand darin, daß er dem Kondenswasser des Agarröhrchens mit steriler Pipette 0,3 cmm der Punktionsflüssigkeit hinzufügte, und daß nach 12—24-stündigem Stehen des Röhrchens im Brutofen die Flüssigkeit durch Neigen über die Agarfläche verteilt wurde. Wenn nun in der Punktionsflüssigkeit nebst dem Dipl. intrac. noch andere Keime vorhanden waren, die etwa von außen, und zwar von der bekanntlich so schwer zu desinfizierenden Haut oder von der etwa nicht ganz sterilen Nadel kommen konnten, und wenn dieselben so beschaffen waren, daß sie im Kondenswasser viel besser gediehen als der Dipl. intrac., so gelangten beim Neigen der Flüssigkeit sehr zahlreiche derartige Keime und wenige oder gar keine Keime des Dipl. intrac. auf die Agarfläche, so daß dann die auf letzterer schließlich entstandenen Kolonieen, selbst wenn sie günstigen Falles getrennt aufgingen, zumeist oder ausschließlich den fremden Keimen angehörten, während vom Dipl. intrac. nur wenige, leicht zu übersehende, oder gar keine Kolonieen entstanden. Daß in dem weniger günstigen Falle, wenn nämlich die entstehenden Kolonieen zusammenflossen, eine Erkennung oder Isolierung etwaiger Kolonieen des Dipl. intrac. noch weniger möglich war, liegt auf der Hand. Es müssen daher auch von diesem Gesichtspunkte aus die von Heubner erzielten Kulturresultate als sehr anfechtbare erklärt werden. Auch die Ergebnisse seiner Versuche an Ziegen, von welchen später Jaeger[1]) behauptete, daß durch sie „der Ring des Beweises für die ätiologische Bedeutung des Dipl. intrac. für die epidemische Cerebrospinalmeningitis geschlossen worden sei“, können ebenfalls nicht als beweisende angesehen werden, und zwar teils aus den eben erwähnten, teils noch aus folgenden Gründen:

Es waren 2 Versuche, in welchen Ziegen nach spinaler Infektion (mittels Lumbalstich) verendeten. Im ersten Versuche war eine von Jaeger erhaltene Kultur eingespritzt worden; bei der Sektion wurden in Ausstrichpräparaten überwiegend extracelluläre Kokken gefunden, also Kokken, die zumeist ein anderes Lagerungsverhältnis zeigten als der Dipl. intrac. Die aus dem Exsudate erhaltenen „Reinkulturen“ wurden nicht beschrieben. Wenn sie nach der oben erwähnten Methode angelegt worden waren, so gelten ihnen gegenüber die schon früher geäußerten Bedenken. In Gewebsschnitten war es nicht gelungen, die spezifischen Kokken mit Sicherheit nachzuweisen.

Im zweiten Versuche waren innerhalb 22 Tagen 2 Heubnersche Kulturen und zuletzt die von einer Meningitis cerebrospinalis stammende Punktionsflüssigkeit injiziert worden. Bei der Sektion wurden in Ausstrichpräparaten ebenfalls vorwiegend extracelluläre Diplokokken gefunden; die erhaltenen Kulturen wurden desgleichen nicht beschrieben, und von einem Nachweis der Kokken in Gewebsschnitten ist überhaupt nicht die Rede. Meine Behauptung, daß die eben angeführten Tierversuche nicht beweisend sind, erscheint somit vollkommen begründet.

Ich habe die Publikationen Heubners ausführlicher besprochen, weil sie gewissermaßen den Typus jener zahlreichen Arbeiten über den Dipl. intrac. darstellen, von welchen ich oben gesagt hatte, daß sie unter dem Einflusse der Jaegerschen Untersuchungen entstanden waren; ich kann mich nun bezüglich der übrigen Arbeiten dieser Kategorie etwas kürzer fassen.

---

1) Die Cerebrospinalmeningitis als Heeresseuche. Berlin 1901. p. 142.

Bei fast allen diesen Arbeiten war das Untersuchungsmaterial so wie bei Heubner ausschließlich die durch Lumbalpunktion gewonnene Flüssigkeit, also wieder ein nur bei Beobachtung größter Vorsicht und Benutzung verläßlicher Methoden brauchbares Objekt. Manche der Autoren beschränkten sich bloß auf Beschreibung der Ausstrichpräparate und gaben bezüglich der Kulturen einfach an, daß der Kulturversuch positiv war, oder daß sie Kulturen des „Meningococcus“ erhalten hatten; selbstverständlich sind solche Angaben nicht zu verwerten.

Bezüglich des Verhaltens der in den Kulturen gewachsenen Kokken gegenüber der Gramschen Methode wird zumeist angeführt, daß die Kokken sich nicht entfärbten, oder daß sie einmal gefärbt blieben, ein andermal sich aber entfärbten, beziehungsweise in den ersten Generationen sich entfärbten, in den späteren aber nicht, oder daß sogar in einem und demselben Präparate Gram-positive und Gram-negative Kokken nebeneinander vorhanden waren.

Was die Beschaffenheit der Kulturen betrifft, so weichen die Angaben nicht bloß von der seiner Zeit durch mich und Goldschmidt gegebenen Beschreibung ab, sondern teilweise auch von der Beschreibung Jaegers, sowie sie auch untereinander starke Differenzen zeigen; nur in einem Punkte herrscht zumeist Uebereinstimmung, nämlich daß die Kulturen relativ lange Zeit überimpfbar blieben. Ich will im folgenden nur die stärkeren Differenzen hervorheben.

So gibt Willy Müller[1]) an, daß die Kulturen die Gelatine verflüssigten und trübten, Urban[2]), daß sie bei 19°—20° in Gelatine längs des ganzen Impfstriches wuchsen und auf Kartoffeln bei saurer Reaktion einen ziemlich üppigen, grauweißen Belag, bei alkalischer Reaktion weniger üppige, mehr trockene, bräunlichgelbe Plaques bildeten (bei Urban findet sich noch die kuriose Behauptung, daß die Kokken im hängenden Tropfen ziemlich lebhaft beweglich waren; er sagt auch „Nach Weichselbaum und Jaeger nehmen die Meningitiskokken im Deckglasausstrichpräparate die Gramsche Färbung an“, obwohl ich das Gegenteil behauptet hatte), Kamen[3]), daß die Kulturen auf Kartoffeln, Gelatine und in Fleischbrühe schon bei 18° (wenn auch sehr kümmerlich) gediehen (auf Kartoffeln bildeten sie einen grauweißen Rasen; bei dieser Angabe behauptet er entgegen der Wahrheit, daß Goldschmidt auf Kartoffeln keine Kulturen erhalten hatte), und daß die Kokken auch bei Luftabschluß, allerdings etwas verzögert wuchsen, Hünermann[4]), daß die Kulturen ebenfalls schon bei Zimmertemperatur wuchsen, die Gelatine langsam verflüssigten und auf Glycerinagar ein Aussehen wie jene des Staph. pyog. aur. und alb. darboten, und Billet[5]), daß sie bei 15°—20° viel besser wuchsen als bei 37°.

Auch in den Angaben über die Virulenz der Kulturen bestehen Verschiedenheiten; während einige Autoren die von ihnen erhaltenen Kulturen als gar nicht pathogen bezeichneten, fanden andere sie wieder für solche Tiere (Meerschweinchen) stark virulent, bei welchen ich seiner Zeit nur einen geringen Effekt erzielen konnte. Gradwohl[6]) will mit

1) Deutsche mediz. Wochenschr. 1897.
2) Wiener mediz. Wochenschr. 1897.
3) Centralbl. für Bakteriologie. Bd. XXIV.
4) Zeitschr. f. klin. Mediz. Bd. XXXV.
5) Ref. in Baumgartens Jahresber. für 1900.
6) Philadelphia monthly med. Journ. 1899.

seiner Kultur bei einer Katze nach intrapleuraler Einverleibung sogar eine typische krupöse Pneumonie erzeugt haben.

Den bisher skizzierten Arbeiten stehen schroff gegenüber eine Anzahl von Publikationen, welche in ihren Angaben über den Diplococcus intracellularis mit den von mir und von Goldschmidt stammenden in allen wesentlichen Punkten übereinstimmen; es sind dies vor allem die Arbeiten von Kiefer[1]), Kister[2]), Kischensky[3]), Wilms[4]), Councilman, Mallory und Wright[5]), Bassoe[6]), Herrick[7]) Hirsh[8]), Faber[9]) und Bonhoff[10]). Unter diesen kommt wieder der Arbeit von Councilman, Mallory und Wright die größte Bedeutung zu, weil die ihr zu Grunde liegenden Untersuchungen an einem großen Materiale (35 Sektionen und 55 Fälle mit Lumbalpunktion) ausgeführt wurden, und die an den Lebenden gewonnenen Befunde durch Untersuchungen an der Leiche kontrolliert werden konnten. Auch Faber verfügte über ein reiches Material (Lumbalpunktion bei 31 Kranken) und hatte ebenfalls die Möglichkeit einer Kontrolle durch die Untersuchung am Sektionstische. Alle diese Autoren, soweit sie überhaupt eine ausführliche Beschreibung liefern, heben, einerseits in Uebereinstimmung untereinander und mit den Angaben von mir und Goldschmidt, andererseits im Gegensatze zu den Verfassern der früher citierten Arbeiten, folgende Punkte hervor:

1) Der Diplococcus intracellularis wird nach Gram stets entfärbt und bildet in Kulturen niemals längere Ketten, d. i. Ketten von mehr als 4 Gliedern.

2) Er wächst nur bei Bruttemperatur.

3) Die Dauer der Ueberimpfbarkeit ist eine ganz kurze.

4) Die Tierpathogenität ist eine ziemlich begrenzte, wobei Mäuse (bei intraperitonealer Infektion) empfänglicher sind als Meerschweinchen und Kaninchen.

Zugleich betonen jene unter den oben angeführten Autoren, welche ausgedehntere Untersuchungen angestellt hatten, daß die zuvor angegebenen Eigenschaften des Diplococcus intracellularis stets konstant blieben, also eine Variabilität in dieser Beziehung nicht konstatiert werden konnte. Councilman, Mallory und Wright haben auch die Resistenz des genannten Coccus gegenüber schädlichen Einflüssen geprüft und fanden dieselbe stets sehr gering.

Die so bedeutende Differenz in den Angaben der Autoren der einen und der anderen Kategorie war bereits mehreren Forschern aufgefallen; aber anstatt an die Möglichkeit zu denken, daß den Autoren der zuerst erwähnten Kategorie in den Kulturen verschiedene Bakterienarten vorgelegen waren, welche mit dem Diplococcus intracellularis nichts zu tun hatten, sondern zumeist nur Verunreinigungen darstellten, griffen sie zur Annahme, daß es sich hierbei

---

1) Berl. klin. Wochenschr. 1896.
2) Centralbl. f. Bakt. 1896.
3) Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1896.
4) Ref. in Baumgartens Jahresbericht. 1897.
5) Epidemic cerebrospinal meningitis and its relation to other forms of meningitis. Boston 1898.
6) Journ. of the Amer. med. assoc. 1898.
7) Ibidem.
8) New York med. Journ. 1899.
9) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXIV.
10) Münch. med. Wochenschr. 1901.

nur um Variationen oder Varietäten, bezw. um verschiedene Typen, des Diplococcus intracellularis gehandelt hatte. So stellte Pfaundler[1]) auf Grund fremder und eigener Beobachtungen die Behauptung auf, daß die Erreger der epidemischen Meningitis cerebrospinalis Diplokokken aus verschiedenen, doch nahe verwandten Arten seien, welche unter sich eine wohl umschriebene Gruppe bilden, und daß aus dieser Gruppe zwei besonders bezeichnete Typen hervorragen, zwischen denen sich Uebergangsformen einreihen. Der eine Typus, welchen er den Weichselbaumschen nennt, sei charakterisiert durch: Doppelbohnenform der Kokken bei wechselnder Größe derselben, Bildung von Tetraden, selten kurzen Ketten, Entfärbung nach Gram, tautropfenartiges Wachstum auf Agar, relativ gutes Wachstum auf Serum, Unvermögen, auf Gelatine, Fleischbrühe, Milch und Kartoffeln zu wachsen und beschränkte Ueberimpfbarkeit, besonders auf Agar. Der zweite Typus, welcher der Heubnersche genannt wird, ist charakterisiert durch: Doppelbohnenform der Kokken, Bildung von ketten- und traubenförmigen Gruppen, Färbbarkeit nach Gram, ziemlich üppiges Wachstum auf Agar mit blaßgelber Farbe, Wachstum auf Gelatine, Fleischbrühe und Kartoffeln.

Aus meiner früheren Darstellung der verschiedenen, den Diplococcus intracellularis betreffenden Untersuchungsresultate ist leicht zu ersehen, daß nicht alle derselben in den 2 Typen Pfaundlers untergebracht sind.

Jaeger mußte auch zugestehen[2]), daß zwischen den von den einzelnen Untersuchern erhaltenen Resultaten „ganz außerordentlich große Unterschiede sich bemerklich machen, welche Zweifel aufkommen lassen könnten, ob es berechtigt sei, diese Mikroorganismen als einheitliche Gruppe aufzufassen“. Allein er beschwichtigt seine Zweifel mit der Frage, ob jemals die Züchtung der betreffenden Kokken aus dem frischen Materiale auf Gelatine oder Kartoffeln, bezw. bei Zimmertemperatur, gelungen sei; er selbst habe auf diese Weise niemals Kulturen erhalten und habe vergeblich in der Literatur nach einer dahingehenden Mitteilung gesucht.

Demgegenüber ist zu bemerken, daß bei mehreren Autoren auch nicht eine gegenteilige Mitteilung, d. i. die Mitteilung vorkommt, daß ihnen die Züchtung auf Gelatine und Kartoffeln, bezw. bei Zimmertemperatur, erst in den späteren Generationen gelungen sei; hätten sie eine solche Beobachtung gemacht, so würden sie dieselbe wohl kaum verschwiegen haben. Uebrigens kommt hier nicht allein das Wachstum bei Zimmertemperatur in Betracht, sondern es bestehen noch andere und zum Teil größere Differenzen. Daß die einen Untersucher ein Gefärbtbleiben der Kokken bei Anwendung der Gramschen Methode, eine Verflüssigung der Gelatine, eine langdauernde Ueberimpfbarkeit und eine große Resistenz der Kulturen, ein Wachstum bei Luftabschluß und eine starke Virulenz für Meerschweinchen, die anderen Autoren aber gerade und konstant das Gegenteil davon beobachteten, läßt sich nicht etwa, wie Jaeger glaubt, durch die Annahme erklären, daß in dem einen Falle eine „Anpassung an den Parasiten ursprünglich nicht

---

1) Beiträge zur klinischen Medizin und Chirurgie. Wien (Braumüller) 1899 und Jahrb. f. Kinderheilk. N. F. Bd. XLIX.

2) Die Cerebrospinalmeningitis als Heeresseuche. Berlin 1901.

zusagende Existenzbedingungen" erfolgte, in dem anderen Falle aber nicht.

Ich hatte seit dem Jahre 1888 in Fällen von Meningitis cerebrospinalis durch längere Zeit den Diplococcus intracellularis nicht mehr zu Gesicht bekommen; auch bei meinen bakteriologischen Untersuchungen während einer kleinen Epidemie in Böhmen zu Anfang der 90er Jahre vermißte ich ihn, obwohl ich sorgfältig nach demselben geforscht hatte. Erst vom Jahre 1896 an kamen in dem unter meiner Leitung stehenden pathologisch-anatomischen Institute in Wien wieder mehrere Fälle zur Obduktion, in welchen der Diplococcus intracellularis gefunden wurde.

Als die Arbeit Jaegers im Jahre 1895 erschienen war, hatte ich sie, aufrichtig gestanden, nur ziemlich flüchtig gelesen, so daß ich, namentlich auf Grund seiner Beschreibung der Ausstrichpräparate, den Eindruck gewann, daß er tatsächlich den Diplococcus intracellularis vor sich gehabt hatte; dementsprechend wurden von mir auch in meine „Epidemiologie" in Weyls Handbuch der Hygiene einzelne Angaben Jaegers aufgenommen. Die in den folgenden Jahren erschienenen Arbeiten verschiedener Kliniker über den Diplococcus intracellularis machten mich allerdings schon stutzig, da in ihnen gewisse Eigenschaften des genannten Coccus angegeben wurden, welche ich seiner Zeit nicht beobachtet hatte. Immerhin konnte man nach den Erfahrungen bei anderen Mikroorganismen die Möglichkeit von Variationen auch beim Diplococcus intracellularis nicht von vornherein bestreiten; um aber diese Frage zu einer sicheren Entscheidung zu bringen, veranlaßte ich meine damaligen Assistenten Albrecht und Ghon, vom Jahre 1896 angefangen, in allen Fällen von Meningitis cerebrospinalis sehr genaue bakteriologische Untersuchungen zu machen und nicht nur das Studium der Biologie des Diplococcus intracellularis zu vervollständigen, sondern den genannten Coccus auch daraufhin zu untersuchen, ob ihm tatsächlich die von verschiedenen Autoren angegebenen Eigenschaften zukommen. Die beiden Herren haben sich dieser Aufgabe in geradezu mustergültiger Weise entledigt; sie haben, wie ihre vor mehr als Jahresfrist erschienene Arbeit zeigt[1]), den Diplococcus intracellularis an einem reichen, zum Teil aus einer großen Epidemie stammenden, einwandsfreien Materiale und mit exakten Methoden nicht nur nach allen Richtungen hin untersucht, sondern auch alle einschlägigen Arbeiten, zum Teil unter Benutzung der meinem Institute von einzelnen Autoren übersendeten Kulturen, einer rein sachlichen Kritik unterzogen, welche in dem Bestreben, niemanden zu verletzen, in manchen Punkten vielleicht sogar zu milde und zu zurückhaltend ausgefallen war. Nichtsdestoweniger haben zwei Autoren, Heubner und Jaeger, es für gut befunden, auf die Arbeit Albrechts und Ghons in einer Weise zu reagieren, welche ich als unzulässig bezeichnen muß. Uebrigens haben die Erstgenannten, insbesondere Jaeger, in ihren neuesten Enunziationen zugleich Daten geliefert, welche Albrecht und Ghon in die Lage versetzten, die Behauptungen ihrer Gegner in noch viel schlagenderer Weise zu widerlegen und die Mangelhaftigkeit der Untersuchungsmethodik der ersteren noch viel deutlicher darzutun, als es früher geschehen war. Ich kann

1) Wien. klin. Wochenschr. 1901.

in dieser Beziehung auf die beiden Erwiderungen verweisen[1]) und beschränke mich hier nur auf die Beantwortung der Frage, ob

1) Die Behauptung Jaegers und seiner Anhänger begründet ist, daß die von ihnen erhaltenen Kulturen wirklich dem Diplococcus intracellularis angehörten, bezw. letzterer eine sehr weitgehende Variabilität aufweisen könne, und ob

2) die Schlußfolgerungen Jaegers und seiner Anhänger bezüglich der Aetiologie und Epidemiologie der Meningitis cerebrospinalis epidemica als bewiesen angesehen werden können.

Bezüglich der ersten Frage muß zunächst die Tatsache hervorgehoben werden, daß über das Verhalten des bei der Meningitis cerebrospinalis gefundenen, bezw. kultivierten „Diplococcus intracellularis“, wie ich schon früher gezeigt habe, zwei Kategorieen von Befunden vorliegen, welche einander ganz unvermittelt gegenüberstehen.

Hierzu muß nur noch ergänzend bemerkt werden, daß die Untersuchungsresultate Albrechts und Ghons sich nicht allein mit den Befunden der einen Kategorie vollkommen decken, sondern noch eine Reihe von neuen wichtigen Daten gebracht haben, welche sich aber harmonisch in den Rahmen der früheren Befunde einfügen; es sind in kurzem folgende:

Der Diplococcus intracellularis wächst niemals unter 25° C. In älteren Agarkulturen zeigt der zentrale Teil der Kolonieen, namentlich im durchfallenden Lichte, eine bräunliche Färbung. Das üppigste Wachstum findet auf serumhaltigem Agar statt; die Kulturen auf schiefem Agar zeigen einen mehr durchscheinenden, meist wellig begrenzten Rand und, wenn sie älter werden, oft eine gelbbraune Färbung mit gleichzeitiger Bräunung des Nährbodens. Auf Kartoffeln entsteht ein zarter Belag, welcher in älteren Kulturen meist eine gelblichbraune Färbung annimmt, wobei es gleichgültig zu sein scheint, ob die Kartoffel schwach sauer oder alkalisch reagiert. In Fleischbrühe bildet sich bei ruhigem Stehen eine bröckelige Kahmhaut. In Milch erfolgt gutes Wachstum, aber ohne Gerinnung der Flüssigkeit. Bei strenger Anaërobiose findet kein Wachstum statt. Die Ueberimpfbarkeit der Kulturen erlischt, wenn sie bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden, schon nach wenigen Tagen (eine Anpassung an diese Temperatur konnte selbst in sehr alten Generationen trotz wiederholter Versuche nicht erzielt werden), während sie bei Aufbewahrung der Kulturen im Brutofen und Schutz vor Austrocknung lange Zeit erhalten bleiben kann. Die Resistenz gegen Austrocknung ist nur eine sehr geringe. Nach intraperitonealer Einverleibung abgetöteter Kulturen gehen weiße Mäuse unter denselben Symptomen zu Grunde wie nach Einverleibung lebender Kulturen.

Ebenso soll hier erwähnt werden, daß Jaeger auf Grund eigener — er hatte nach seiner ersten Arbeit noch weitere 17 Fälle von Meningitis cerebrospinalis untersucht, und zwar in 15 Fällen eingesendete Teile des Gehirns (!), in einem Falle die Lumbalpunktionsflüssigkeit und einmal bei gleichzeitigem Herpes der Mundhöhle den Speichel[2]) — und fremder Untersuchungen seine früheren Angaben über den Diplococcus intracellularis ergänzt, und zwar folgendermaßen[3]): In Kulturen kommen häufig verschieden große Kokken vor, von welchen die größeren (in Uebereinstimmung mit Faber) sehr stark färbbar sind, während andererseits (in Uebereinstimmung mit Kamen) auch schattenartige, sich nicht färbende Formen gefunden werden. Im Bakteriensysteme kommt dem Diplococcus intracellularis die Stellung zwischen Gonococcus und Staphylococcus zu. Gegenüber der Gramschen Färbung nehmen die Kokken (in Uebereinstimmung mit C. Fraenkel) eine Mittelstellung ein. Sie wachsen, frisch gezüchtet, nur bei 37°, später aber auch bei 22°. Auf Blutserum dürftiges Wachstum. Auf Loefflers Blutserum weißliche, durchscheinende, schleimig aussehende Kolonieen mit scharf begrenzter Randlinie. In Fleischbrühe zuerst diffuse Trübung (aber niemals Kahmhautbildung), dann Klärung und Bildung eines Bodensatzes. Auf Glycerinagar oder Agar kommt es häufig zu einer gewissen Anpassung, so daß die Kulturen Neigung zum Konfluieren haben und etwas dickere, bläulich-milchweiße Auflagerungen bilden; manche Stämme behalten jedoch die Neigung, gesonderte kleinste Kolonieen zu bilden, unverändert bei. Auf Gelatine wachsen die Kokken, wenn die

1) Siehe Wien. klin. Wochenschr. 1902 und diese Nummer des Centralbl. f. Bakt.
2) Dtsche med. Wochenschr. 1899.
3) Die Cerebrospinalmeningitis als Heeresseuche. Berlin 1891.

Anpassung auf Zimmertemperatur gelingt, stets äußerst langsam, spärlich und ohne Verflüssigung; auf Gelatineplatten entstehen punktförmige Kolonieen von gelblichem Aussehen. Auf Kartoffeln nur bei Bruttemperatur ein Wachstum, aber ein unsichtbares. Die Dauer der Ueberimpfbarkeit betrug in einem Falle über 58 und in einem anderen Falle über 96 Tage, sonst bei mehrfach „umgezüchteten Kulturen" über 3 Wochen. Die Resistenz gegen Eintrocknen ist sehr bedeutend und wird nur von den Sporen der Milzbrand-, Rauschbrand- und Tetanusbacillen übertroffen.

Während aber die auf sehr zahlreichen Einzeluntersuchungen beruhenden Befunde der einen Kategorie nicht nur untereinander in allen wesentlichen Punkten übereinstimmen, sondern auch immer die gleichen waren, ob die Kulturen von diesem oder jenem Falle von Meningitis cerebrospinalis stammten, und ob sie einer jungen oder alten Generation angehörten — Albrecht und Ghon fanden selbst bei Stämmen, die durch mehrere Jahre fortgezüchtet wurden, immer das gleiche Verhalten — zeigen die Befunde der anderen Kategorie sowohl untereinander sehr weitgehende Differenzen als auch in den verschiedenen Generationen ein recht ungleichmäßiges Verhalten. Kann man nun aus dieser Tatsache den Schluß ziehen, daß der Diplococcus intracellularis in der einen Kategorie eine auffällige Konstanz, in der anderen aber eine sehr große Variabilität zeigte? Dieser Schluß wäre gewiß ein sehr gezwungener, weil es unerklärlich erscheinen müßte, warum gerade die einen Untersucher, obwohl sie sehr zahlreiche Fälle von Meningitis cerebrospinalis intra vitam und post mortem, aus großen Epidemieen und außerhalb von Epidemieen, untersuchten, ausnahmslos Kulturstämme mit stets gleichen und unwandelbaren Eigenschaften erhielten, während die anderen Untersucher Kulturen von sehr differentem und veränderlichem Charakter in ihre Hände bekamen. Viel mehr drängt sich der Gedanke auf, daß die letztgenannten Untersucher ganz andere Bakterienarten vor sich hatten, als die ersteren, und zwar nicht bloß in den einzelnen Fällen überhaupt, sondern zum Teil auch in den verschiedenen Generationen eines und desselben Falles, oder mit anderen Worten, daß die letztgenannten Untersucher in ihren Fällen, in allen oder in den meisten, zwar in den Ausstrichpräparaten vom Exsudate, bezw. der Punktionsflüssigkeit, den Diplococcus intracellularis gesehen hatten, aber in den Kulturen, sei es gleich anfangs oder in den späteren Generationen, Verunreinigungen erhielten. Dieser Gedanke findet noch eine wichtige Stütze in der Tatsache, daß jene variablen Befunde, von welchen wir zuletzt sprachen, fast ausschließlich in Fällen erhoben wurden, in welchen bloß die Lumbalpunktionsflüssigkeit untersucht worden war, und von Autoren stammen, welche sich bei ihren Kulturversuchen einer nicht einwandsfreien oder einer geradezu sehr bedenklichen Methode bedient hatten.

Daß die Lumbalpunktion ein Akt ist, bei welchem leicht fremde Keime in das Untersuchungsmaterial gelangen können, wurde schon an einer anderen Stelle angedeutet und zugleich darauf hingewiesen, daß einzelne Untersucher selbst eingestanden, daß sie in den von der Punktionsflüssigkeit stammenden Kulturen Verunreinigungen erhielten. Auch Pfaundler[1]) sagt: „Daß man trotz aller Kautelen manchmal Verunreinigungen in den Gläsern findet, ist leider wahr; daher muß die penibelste Vorsicht und Zurückhaltung in der Verwertung der Züchtungsergebnisse gefordert werden." Weitere Belege für das eben Gesagte kann man auch in der

---

1) l. c.

Tatsache erblicken, daß Stadelmann[1]) in einem Falle von Meningitis cerebrospinalis, in welchem er 4mal die Lumbalpunktion ausgeführt hatte, in den Ausstrichpräparaten keine Bakterien und auch auf Agar zunächst kein Wachstum bemerkte; erst nach 8 Tagen zeigten sich „deutliche Kulturen“ eines Bacillus, und jetzt konnte man auch in der Punktionsflüssigkeit, die inzwischen aufbewahrt worden war, dieselben Bacillen mikroskopisch nachweisen; ebenso in der Tatsache, daß von mehreren Untersuchern bei Meningitis in der ganz klaren Punktionsflüssigkeit bei der mikroskopischen Untersuchung keine Bakterien gesehen wurden, in den Kulturen aber angeblich der Diplococcus intracellularis aufgegangen war, während sich bei der Sektion die Meningitis als eine tuberkulöse erwiesen hatte. Schließlich kann noch auf die Tierexperimente Hünermanns[2]) verwiesen werden. Er hatte einer Ziege die in einem Falle von Meningitis erhaltene Kultur eines Bacillus mittels Lumbalpunktion eingespritzt und war hierbei nach seiner Versicherung mit der größten Vorsicht vorgegangen, indem er die Injektionsstelle in weitester Umgebung rasierte und desinfizierte und die Spritze samt Kanüle in Sodalösung auskochte, und trotzdem waren in den nach der Tötung des Tieres aus den Hirn- und Rückenmarkshäuten angelegten Kulturen nebst Kolonieen des eingespritzten Bacillus noch Kokkenkolonieen aufgegangen.

Was weiter die Methodik betrifft, welcher sich Jaeger und die meisten seiner Anhänger bei ihren Kulturversuchen bedienten, so habe ich schon an einer anderen Stelle auf die Bedenklichkeit derselben hingewiesen[3]) und auch auseinandergesetzt, wie man mit einer solchen Methode, falls das Ausgangsmaterial nicht ein „reines“ ist, meistens zu falschen Resultaten kommen müsse. Das Gleiche gilt auch bezüglich jener Modifikation, welche Jaeger erst kürzlich in seiner Monographie über die Cerebrospinalmeningitis (p. 132) erwähnt, indem er sagt: „Ich konnte in mehreren Fällen bei Untersuchung der Lumbalpunktionsflüssigkeit erst dann zum Ziele gelangen, wenn ich das Exsudat zur Anreicherung 24 Stunden in den Brutschrank stellte.“

Ich komme also bezüglich der ersten Frage zu dem Schlusse, daß die von Jaeger und dessen Anhängern behauptete Variabilität des Diplococcus intracellularis bisher als nicht bewiesen angesehen werden muß, und vielmehr anzunehmen ist, daß die von verschiedenen Untersuchern erhaltenen Kulturen, welche nicht das von mir, Goldschmidt, Councilman, Mallory und Wright, Albrecht und Ghon und den übrigen, oben in der zweiten Kategorie angeführten Autoren beschriebene Verhalten zeigten, nicht dem Diplococcus intracellularis angehörten, sondern in den meisten Fällen von verunreinigenden Keimen stammten.

Zur Bekräftigung des letzten Absatzes kann ich mir nicht versagen, auf Aeußerungen hinzuweisen, welche Jaeger in seiner früher citierten Monographie (p. 164 ff.) macht. Er sagt, daß gewiß noch häufiger, als die nach seiner Behauptung vorkommenden Mischinfektionen des Diplococcus intracellularis mit Staphylokokken[4]) erkannt

1) Dtsche med. Wochenschr. 1899 und Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXXVIII.
2) l. c.
3) In seiner Arbeit in der Dtsch. med. Wochenschr. (1899) warnt Jaeger selbst vor „allzu ausschließlicher Anwendung der jetzt so allgemein gewordenen Methode des Ausstreichens auf in Reagenzröhrchen schräg erstarrten Nährsubstraten“.
4) Jaeger beginnt seine Ausführungen wörtlich folgendermaßen: „Ich selbst habe sie (nämlich die Mischinfektion mit dem Staphylococcus pyogenes) gleichfalls

wurden, es begegnet sei, daß man die gefundenen Staphylokokken für Kokken der Meningitis hielt (!). Die Unterscheidung der letzteren vom Staphylococcus aureus sei leicht; „etwas schwieriger kann es sein, wenn Staphylococcus albus wächst. Dieser Fall hat mir besonders noch in der zweiten Reihe meiner Untersuchungen ab und zu Schwierigkeiten bereitet, indem ich bei diesem Befunde zunächst glaubte, einen besonders üppig wachsenden Diplococcus meningitidis vor mir zu haben. Jahre hindurch fortgesetzte vergleichende Untersuchungen verschiedener Kulturstämme haben mich jedoch überzeugt, daß ein so üppiges Wachstum wie beim Staphylococcus beim Meningococcus nicht vorkommt" . . . . „Auch eine gegenüber den Kontroll-Staphylokokkenkulturen ganz auffällige, viel langsamere Verflüssigung, wie Hünermann sie beschreibt, habe ich in 2 Fällen beobachtet, in welchen auch das Wachstum auf Agar üppiger war als auf den übrigen authentischen Meningitiskulturen. Wiederholtes Plattenverfahren zeigte mir schließlich, daß doch immer wieder Staphylococcus albus dazwischen war, bis es mir endlich gelang, in jedem der beiden Fälle 2 Reinkulturen zu erhalten, deren eine alle Merkmale der typischen Meningokokken, die andere alle Merkmale des typischen Staphylococcus albus besaß und seither bewahrt".

Diese Darstellung bedarf wohl keines weiteren Kommentars; sie ist schon an und für sich geeignet, ein berechtigtes Mißtrauen gegen die Untersuchungen Jaegers wachzurufen.

Was die Beantwortung der zweiten Frage betrifft, ob nämlich die Schlußfolgerungen Jaegers und seiner Anhänger bezüglich der Aetiologie und Epidemiologie der Meningitis cerebrospinalis als bewiesen angesehen werden können, so kann ich in Bezug auf die in Jaegers erster Arbeit ausgesprochenen Behauptungen auf das hinweisen, was ich hierüber schon an einer anderen Stelle bemerkt habe. Ich muß dem nur noch hinzufügen, daß auch das von Jaeger behauptete Vorkommen von Mischinfektionen bei der durch den Diplococcus intracellularis erzeugten Form von Meningitis cerebrospinalis, und zwar mit Staphylococcus pyogenes und Diplococcus pneumoniae (oder anderen Bakterien) durch die Untersuchungen Jaegers sicherlich nicht als bewiesen anzusehen ist, wobei ich mich wieder auf die Gründe berufen kann, welche ich schon früher vorgebracht habe.

Was eine weitere Behauptung Jaegers (und anderer Autoren) betrifft, daß die epidemische Form der Meningitis cerebrospinalis ausschließlich durch den Diplococcus intracellularis hervorgerufen werde, so kann diese ebenfalls nicht als durch die Untersuchungen Jaegers bewiesen angesehen werden, und zwar aus folgenden Gründen: Es existieren erstens eine Anzahl von Beobachtungen, denen zufolge bei epidemischer Meningitis cerebrospinalis einzig und allein der Diplococcus pneumoniae, sei es in typischer oder atypischer Form, nachgewiesen wurde; es gehören hierher unter anderen die Beobachtungen von Foà und Bordoni-Uffreduzzi[1]), Bonome[2]), Flexner und Barker[3]), Quadù[4]), Pańienski[5]) und von mir[6]).

Diese Beobachtungen, welche sich teilweise auch auf größere Epidemieen erstrecken, darf man nicht einfach ignorieren, und zwar um so weniger, als in mehreren von ihnen ganz exakt und einwandsfrei der

---

wiederholt gesehen und zwar unter anderem im ersten Falle, den ich überhaupt zu untersuchen bekam." Nun sucht man aber ganz vergeblich nach diesem Falle in Jaegers erster Arbeit!

1) Dtsche med. Wochenschr. 1886 und Giorn. d. R. accad. di med. 1886.
2) Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. Bd. VIII und Arch. p. l. s. med. 1890.
3) Amer. Journ. of the med. sc. 1894.
4) Rif. med. 1895.
5) Dtsche militär-ärztl. Zeitschr. 1895.
6) Epidemiologie. (Weyls Handb. d. Hyg. Bd. IX.) Jena 1899.

Beweis von dem ausschließlichen Vorhandensein des Diplococcus pneumoniae in Fällen von epidemischer Meningitis cerebrospinalis erbracht wird. Es muß somit schon auf Grund der bisher angeführten Befunde die Behauptung Jaegers, daß in den betreffenden Fällen von epidemischer Meningitis cerebrospinalis (oder in einem Teile derselben) der Diplococcus pneumoniae bloß „die Bedeutung eines sekundär infizierenden Parasiten gehabt habe“, als eine ganz willkürliche bezeichnet werden. Aber auch unter den Untersuchungen Jaegers ist keine einzige, welche eine solche Behauptung rechtfertigen würde, und der Fall 5 in der Tabelle I aus seiner ersten Untersuchungsreihe, auf welchen er sich offenbar stützen will, ist ein derartiger, daß er jede andere Deutung eher zuläßt als die ihm von Jaeger gegebene. Uebrigens gibt letzterer selbst zu, daß die durch den Diplococcus pneumoniae hervorgerufene Form von Meningitis cerebrospinalis „gelegentlich auch einmal epidemisieren könne“, was schon einen gewissen Widerspruch mit seiner früheren Behauptung bedeutet, abgesehen davon, daß eine Krankheit, welche einmal etwas „epidemisieren“ kann, wahrscheinlich ein andermal auch etwas mehr zu „epidemisieren“ imstande sein dürfte. Wenn nun auch heutzutage feststeht, daß die epidemische Meningitis cerebrospinalis in sehr vielen Fällen durch den Diplococcus intracellularis verursacht wird, so ist Jaeger doch nicht zu dem Ausspruche berechtigt, daß diese Tatsache durch seine Untersuchungen bewiesen worden wäre; denn ich habe ja früher gezeigt, daß Jaeger während der von ihm beobachteten Epidemie den Diplococcus intracellularis zwar in Ausstrichpräparaten vom meningitischen Exsudate gesehen haben dürfte, daß er aber nicht imstande war, ihn rein zu züchten.

Nebenbei will ich übrigens noch bemerken, daß es auch nicht der vollen Wahrheit entspricht, wenn Jaeger behauptet, daß ich „weit mehr geneigt war, den Diplococcus pneumoniae für den Erreger der epidemischen Genickstarre zu halten als den Diplococcus intracellularis“; wahr ist vielmehr, daß ich, wie ich schon eingangs der vorliegenden Abhandlung anführte, im Jahre 1887 mich dahin äußerte, daß es sich „noch nicht mit Sicherheit“ beantworten lasse, ob auch die epidemische Form der Meningitis cerebrospinalis durch den Diplococcus intracellularis oder Diplococcus pneumoniae verursacht werde, und ein Jahr darauf es ausdrücklich „für nicht unwahrscheinlich“ erklärte, daß der Diplococcus intracellularis auch Epidemieen von Meningitis cerebrospinalis hervorrufe. Aus dem gleichen Grunde muß ich auch die Behauptung Heubners, daß ich mich über die Beziehungen des Diplococcus intracellularis zur eigentlichen Genickstarre noch „sehr unsicher“ geäußert habe, mindestens als ungenau bezeichnen. Tatsächlich ist aber schon durch meine im Jahre 1887 publizierten Untersuchungen bewiesen worden, daß der Diplococcus intracellularis die epidemische Meningitis cerebrospinalis hervorzurufen imstande ist, weil diese Untersuchungen Fälle betrafen, die, wie sich später herausstellte, einer Epidemie angehörten.

Was schließlich noch die Behauptung Jaegers betrifft, daß die Meningitis cerebrospinalis durch das Nasensekret übertragen werde, da letzteres bei Meningitiskranken regelmäßig den Diplococcus intracellularis enthalte, und daß zu Zeiten von Epidemieen der genannte

Coccus überall ausgestreut sei, weil er von Jaeger sowohl in Ulm als in Königsberg im Fußboden von Kasernen nachgewiesen werden konnte[1]) und er nach seinen und Germanos Untersuchungen eine sehr große Resistenz gegen Austrocknung besitze, so ist es zwar richtig, daß das Nasensekret der an Meningitis cerebrospinalis Erkrankten den Diplococcus intracellularis beherbergen könne, und deshalb auch nicht unwahrscheinlich, daß durch dasselbe die Krankheit übertragen werden könne; aber es darf nicht behauptet werden, daß diese Erkenntnis aus den Untersuchungen Jaegers hervorgehe, weil, wie ich schon früher gezeigt habe, diese Untersuchungen, sowie die Untersuchungen Scherers durchaus nicht beweisend sind. Eine wirkliche Beweiskraft kann nur den diesbezüglichen Untersuchungen Kiefers und namentlich Albrechts und Ghons zugeschrieben werden, welch letztere auch auf die sehr wichtige, zu Täuschungen so leicht Anlaß gebende Tatsache aufmerksam machen, daß im Respirationstrakte nicht selten Kokkenformen vorkommen, welche sich vom Diplococcus intracellularis morphologisch gar nicht und kulturell nur durch sehr exakte Untersuchungen unterscheiden lassen.

Dagegen müssen alle epidemiologischen Schlüsse, welche sich auf die von Jaeger und Germano angeblich gefundene große Resistenz des Diplococcus intracellularis stützen, als hinfällig bezeichnet werden. Da die Bakterienart, mit welcher die vorgenannten Autoren experimentierten, nicht der Diplococcus intracellularis war, so ist auch dessen große Resistenz nicht erwiesen; im Gegenteil, aus den Untersuchungen von Councilman, Mallory und Wright, sowie von Albrecht und Ghon geht hervor, daß die Resistenz des Diplococcus intracellularis gegen Eintrocknung und überhaupt gegen schädliche Einflüsse eine sehr geringe ist, weshalb auch nicht angenommen werden kann, daß dieser Krankheitskeim während einer Epidemie überall im lebensfähigen Zustande ausgestreut sei. Es besteht auch keine Nötigung, etwa aus dem epidemiologischen Verhalten der Meningitis cerebrospinalis auf eine bedeutende Resistenz des Diplococcus intracellularis zu schließen, wie es Jaeger getan hat, da, wie wir jetzt wissen, der Influenzabacillus ebenfalls sehr wenig resistent ist und doch zu gewissen Zeiten die Influenza zu Epidemieen und Pandemieen anschwillt. Wenn wir annehmen dürfen, daß der Diplococcus intracellularis nicht nur im Nasensekrete von Meningitiskranken, sondern in gewissen Fällen auch im Sekrete von Rhinitis ohne Meningitis oder selbst in der Nasenhöhle von gesunden Personen vorkommen kann, zu welcher Annahme wir durch die Untersuchungen von Kiefer, sowie von Albrecht und Ghon einige Berechtigung haben, so ist auch die Folgerung zulässig, daß die Verschleppung des Infektionsstoffes nicht nur durch Meningitiskranke, sondern auch durch gesunde Zwischenpersonen erfolgen könne, eine Folgerung, welche auch mit den bisherigen epidemiologischen Erfahrungen im Einklange steht.

---

1) Dtsche med. Wochenschr. 1899.

# Drei neue Tänien aus Ceylon.

Von Dr. **v. Linstow** in Göttingen.

Herr Dr. A. E. Shipley in Cambridge hatte die Freundlichkeit, mir die hier beschriebenen Cestoden zu schicken, wofür ich an dieser Stelle nochmals bestens danke.

## *Taenia polycalcaria* n. sp.

aus dem Darm von *Felis pardus*; Weraurla, Ceylon.



Fig. 1. Fig. 2.

Länge 108 mm, Breite vorn 1,50 mm, hinten 6,71 mm; die letzten Proglottiden sind 1,38 mm lang; die Geschlechtsöffnungen, von einem wulstigen Rande umgeben, stehen unregelmäßig abwechselnd am Rande der Glieder in deren Mitte. Jederseits verläuft nur ein Hauptlängsgefäß im 2. und 5. Sechstel des Querdurchmessers, 0,13 mm nach außen bemerkt man den Hauptlängsnerven; alle Proglottiden sind noch unreif; die keimbereitenden Organe fehlen, nur die Anlage der Hoden ist erkennbar; ferner sieht man den 0,26 mm tiefen Geschlechtssinus; die Marksubstanz ist von der Rindensubstanz dorsal und ventral durch eine breite Lage von Transversalmuskeln geschieden; die Marksubstanz ist halb so breit wie die dorsale und ventrale Rindensubstanz; außerordentlich zahlreich sind die dicht gedrängten Kalkkörperchen.

Da die Geschlechtsorgane noch nicht entwickelt sind, müssen die Haken des Rostellum zur Artunterscheidung besonders berücksichtigt werden.

Man findet 2 × 19 Haken, die 0,238 und 0,158 mm messen; sie sind gerade gestreckt, der kurze Hebelast steht senkrecht zur Hauptrichtung, bei den großen etwa in der Mitte, bei den kleinen etwas dahinten; er ist bei den kleinen ungespalten.

Von den in verwandten Raubtieren lebenden Tänien können die zu *Mesocestoides* und *Dipylidium* gehörigen Arten unberücksichtigt bleiben; *Taenia oligarthra* Diesing besteht wie *Taenia echinococcus* v. Sieb. nur aus 3—4 kleinen Gliedern, *Taenia laticollis* Rud. hat nur eine Hakenreihe, verglichen müssen aber werden *Taenia novella* Neumann, *Taenia serrata* Goeze und *Taenia crassicollis* Rudolphi.

*Taenia novella* Neumann hat 2 × 20—21 Haken, die 0,250—0,260 und 0,150—0,155 mm messen; der Hebelast ist mit der Spitze nach dem Hakenast gerichtet; bei den kleinen Haken ist der Wurzelast viel kürzer als der Hakenast und nach der Rückenfläche gebogen, der Hebelast der kleinen Haken aber ist gespalten.

*Taenia serrata* Goeze besitzt 2 × 17—24 Haken; die großen messen 0,225—0,250, die kleinen 0,120—160 mm; der Hebelast der großen

Haken steht weit vor der Mitte, der der kleinen hinter derselben, und auch bei diesen letzteren ist er gespalten.

*Taenia crassicollis* Rud. zeigt 2 × 13—26 Haken, die 0,380—0,420 und 0,250—0,270 mm messen; der Hebelast ist plump und nach der Spitze gerichtet; bei den kleineren Haken steht er hinter der Mitte; während diese Haken viel größer sind als die von unserer Art, sind die von *Taenia coenurus* Rud. erheblich kleiner.

## *Taenia maeander* n. sp.

aus *Hipposideros* n. sp., Darm. Kalpituya, Ceylon.

Die Länge beträgt 18,2 mm, die Breite vorn 0,12 mm, hinten 0,99 mm; die größte Breite erreichen die Proglottiden hinter der Mitte mit 1,42 mm, wo sie 0,12 mm lang sind; die ersten sind 0,015 mm lang und 0,15 mm breit; alle Glieder sind mithin sehr kurz; das letzte Glied ist hinten abgerundet. Die Geschlechtsöffnungen stehen randständig und einseitig. Der Skolex ist 0,13 mm breit, das Rostellum 0,062 mm; an letzterem steht im vorderen Drittel ein Kranz von 24 Haken, die 0,0091 mm messen; sie sind hammerförmig gestaltet (Fig. 5); die Saugnäpfe sind längsoval und 0,078 mm lang und 0,047 mm breit. Die Cuticula ist 0,0025 mm dick; unter ihr liegen 2 Schichten von Längsmuskeln (Fig. 4, *a* u. *i*): die äußeren Stränge bestehen aus 2—3, die inneren aus 6—8 Fibrillen; in jedem Querschnitt sieht man etwa 20 Hoden, die zum Teil zwischen den beiden Längsmuskelschichten

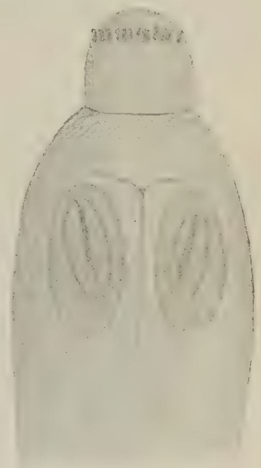


Fig. 3.

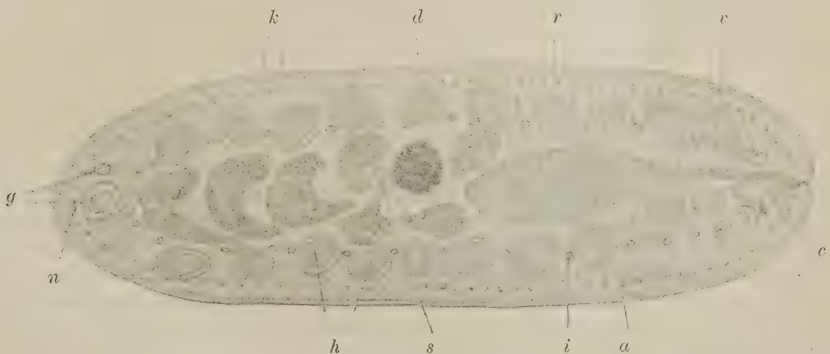



Fig. 4.

liegen; der Cirrusbeutel ist klein und birnförmig; das Receptaculum seminis reicht bis fast zur Mitte des Querdurchmessers; der Dotterstock liegt etwa in der Mitte des Gliedes, seine Zellen messen 0,0043 mm; daneben findet sich die kleine Schalendrüse; der Keimstock liegt in der Marksubstanz; er besteht



Fig. 5.

aus mehreren Drüsengruppen, welche sich an der den Geschlechtsöffnungen entgegengesetzten Seite ausbreiten; die Keimzellen sind 0,0130 mm groß; Kalkkörperchen fehlen ganz; an jeder Seite verlaufen nach dem Rande 2 Längsgefäße, von denen das eine auffallend stark geschlängelt ist, so daß man auf 0,025 mm dicken Querschnitten meistens eine Schlinge sieht; dicht daneben nach außen verläuft ein Nerv. Die Eier sind oval und 0,052 mm lang und 0,042 mm breit; die kugelrunde Onkosphäre mißt 0,026 mm; die äußere Hülle ist mit unregelmäßigen Erhabenheiten dicht besetzt.

***Acanthotaenia Shipleyi*** n. gen., n. sp.
aus dem Darm von *Varanus* (*Hydrosaurus*) *salvator*, Ceylon.


Fig. 6.

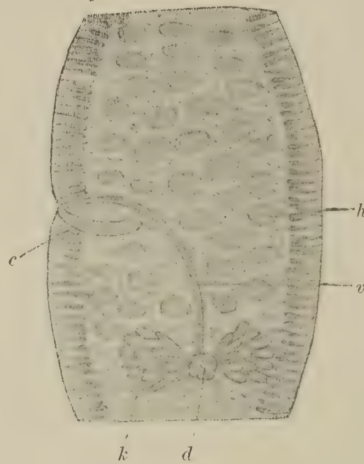


Fig. 7.

Es ist nur 1 Exemplar als mikroskopisches Präparat vorhanden, so daß Querschnitte nicht angefertigt werden konnten. Länge 13,8 mm, Breite vorn 0,11 mm, hinten 0,49 mm; Hinterende abgerundet; die Proglottidenbildung ist vorn gar nicht, hinten nur schwach angedeutet und nur durch die Lage der Geschlechtsorgane erkennbar; hinten sind die Glieder 0,97 mm lang und 0,49 mm breit; die Geschlechtsöffnungen stehen unregelmäßig abwechselnd in der Mitte des Gliederrandes; der Skolex ist 0,24 mm lang, hinten 0,18 mm breit; das Rostellum hat eine Länge von 0,12 mm und eine Breite von 0,10 mm; die Cuticula des ganzen Skolex und des folgenden Körpers bis 1,76 mm nach hinten ist aufs dichteste mit feinen Borsten besetzt. In jedem Gliede liegen etwa 50 Hoden, der Cirrusbeutel findet sich hinter der Vagina und ist halbmondförmig gebogen, mit der Konvexität nach vorn; die Vagina verläuft im Bogen zur Mitte des hinteren Gliedrandes; am Ende liegt der rundliche Dotterstock und rechts und links die gelappten Keimstockshälften; die Subkutikularzellen sind mächtig entwickelt; Eier sind noch nicht ausgebildet.

Die Gattungsdiagnose würde lauten: Der ganze Skolex und die Körpercuticula vorn dicht mit feinen Borsten besetzt; keine Haken am Rostellum, Geschlechtsöffnungen randständig, unregelmäßig abwechselnd, etwa 50 Hoden in jedem Gliede, Proglottidenbildung äußerlich kaum erkennbar.

Erklärung der Abbildungen.

*h* Hoden, *c* Cirrusbeutel, *k* Keimstock, *d* Dotterstock, *v* Vagina, *s* Schalendrüse, *r* Receptaculum seminis, *g* Gefäß, *n* Nerv, *a* äußere, *i* innere Längsmuskeln.

Fig. 1 u. 2. Großer und kleiner Rostellumhaken von *Taenia polycalcaria.*

Fig. 3—5. *Taenia maeander.* *3* Skolex, *4* Querschnitt eines reifen Gliedes, schematisch, *5* Rostellum-Haken.

Fig. 6—7. *Acanthotaenia* Shipleyi. *6* Skolex, *7* reifes Glied von der Fläche.

---



# Ueber die Bereitung eines antibakteriellen Diphtherieserums.

## Sein prophylaktischer und Heilwert.

Von Dr. **Ivo Bandi**, San Paulo, Brasilien,
staatl. bakteriolog. Institut zu San Paulo.

Mit 2 Kurven.

Das Streben der Serumtherapeuten ist bei der Bereitung eines Diphtherieserums ausschließlich darauf gerichtet, die größtmögliche Menge Antitoxin in dem kleinsten Serumvolumen zu erhalten; die bakterienwidrigen Eigenschaften des Serums werden dagegen fast völlig vernachlässigt.

Wird nun das Diphtherieserum bei prophylaktischen Injektionen angewandt, bei denen die vorbeugende Wirkung eines Serums viel mehr auf seinen bakterienwidrigen als auf seinen antitoxischen Wirkungen beruht, so erscheint ein solches Bestreben a priori als unrichtig; es erscheint dagegen wohl ohne weiteres richtig, wenn man die Anwendung des Serums zum Zwecke der Heilung ins Auge faßt. Gestützt auf unsere neueren Kenntnisse über den Mechanismus der Immunität und über die Konstitution der Gifte bakteriellen Ursprunges, darf man trotzdem verlangen, daß in jedem Heilserum, mag es auch speziell gegen ein so eminent toxisches Leiden wie die Diphtherie sein, mit den antitoxischen Eigenschaften die spezifisch bakterienwidrigen in starkem Maße vereinigt seien. Es erscheint sogar als ein vernünftiges Verlangen, daß in gewissen Spezialfällen man sich in höherem Maße auf eine energische bakterienwidrige Wirkung eines Serums, als auf seine antitoxischen Eigenschaften verlassen kann. Auf Grund dieser Ueberlegungen unternahm ich die Bereitung eines Diphtherieserums, das vor allem bakterienwidrig wäre, um dann seine vorbeugende und heilende Wirkung bei den Versuchstieren zu studieren und seinen therapeutischen Effekt bei den Menschen festzustellen, wo sich mir dazu Gelegenheit bot.

Die klassische Methode zur Darstellung des Diphtherieserums, die darin besteht, daß man die Serum erzeugenden Tiere mit den filtrierten oder dekantierten Diphtheriekulturen in Nährflüssigkeit impft, ist vollkommen ungeeignet, um ein Serum zu erhalten, das eine starke bak-

terientötende Kraft besitzt. Einige Diphtheriesera, welche sich im Handel befinden, wie die des Institutes für Serumtherapie in Bern, des Instituts Pasteur, des Instituts für Serumtherapie in Brüssel, habe ich auf ihre bakterientötende Kraft hin untersucht, und sie fast gänzlich wirkungslos gefunden. Die geringe bakterientötende Wirkung der Diphtheriesera des Handels muß man, wenn sie vorhanden ist, der Wirkung der wenigen Keime zuschreiben, die noch in der Dekantationsflüssigkeit der Kulturen vorhanden sind, oder den löslichen Plasmoproteinen, welche von den mazerierten Bakterienleibern der Kulturflüssigkeiten herrühren und die in die Filtrate gelangt sind. Es war klar, daß meine Versuche zur Darstellung eines an bakterientötenden Stoffen reichen Serums unternommen werden mußten mit Hilfe von Methoden, die darauf gerichtet waren, die Serum erzeugenden Tiere große Mengen von Bakterienkörpern verarbeiten zu lassen.

Um diese Versuche ins Werk zu setzen, wählte ich unter den verschiedenen Diphtheriebacillen, welche ich isoliert hatte, denjenigen aus, der in besonders starker Weise auf die Versuchstiere (Meerschweinchen) wirkte; ich steigerte dann die Giftigkeit, indem ich den Meerschweinchen nach und nach abnehmende Mengen einer Kultur in Agar oder in Loeffler-Serum subkutan injizierte.

Nachdem ich so einen Pilz von ausgesprochener Giftigkeit erhalten hatte, unternahm ich die Darstellung des Serums bei einem Hunde, dem ich zuerst 5 ccm einer dicken Emulsion von einer Diphtheritiskultur auf Agar ins Peritoneum injizierte, nachdem die Kultur während $^1/_2$ Stunde zunächst einer Temperatur von $60^0$ ausgesetzt worden war. Nach 1 Woche wiederholte ich die Injektion ins Peritoneum mit 8 ccm einer Emulsion der auf Agar gezogenen Kultur. Ich wiederholte so die Injektionen von 7 zu 7 Tagen, indem ich allmählich die Menge der Kultur beim Impfen vermehrte. 5 Tage nach der 5. Injektion führte ich an der Kehle des Hundes einen Aderlaß aus und sammelte aus dem erhaltenen Blute das Serum, das ich auf seine antitoxischen und bakterientötenden Eigenschaften prüfte. Die antitoxische Wirkung dieses Serums war, wie man nach der zur Darstellung angewandten Methode wohl erwarten durfte, sehr schwach und entsprach ungefähr 10 Immunisierungseinheiten per Kubikzentimeter von der Dosierung von Ehrlich. Die Bewertung der bakterientötenden Kraft wurde von mir auf Grund der Anwesenheit spezifischer Antikörper berechnet. Was nun den Nachweis der bakterientötenden Eigenschaften der spezifischen Sera im wahren Sinne des Wortes im Reagensglase betrifft, so wissen wir, daß dieser Nachweis in der großen Mehrzahl der Fälle nicht zu führen ist und daß wir zu Hilfsmitteln unsere Zuflucht nehmen müssen, wenn wir in ihnen die Anwesenheit von Antikörpern nachweisen wollen, die außerhalb des Organismus keine wahre bakterientötende Wirkung ausüben.

Ich habe nun daran gedacht, im Reagensglase die bakterientötende Kraft des von mir dargestellten Serums auf Grund der Bakterienagglutinine und der spezifischen sensibilisierenden Substanz festzustellen. Ich gelangte zu diesem Entschlusse im Verfolg der Resultate einer Reihe von systematischen Beobachtungen, die ich vor kurzem in verschiedenen Fällen von Pest und Unterleibstyphus angestellt habe; diese haben mich zur Konstatierung folgender Tatsachen geführt:

1) Die spezifischen Bakterienagglutinine eines Serums müssen als wahre bakterientötende Mittel betrachtet werden.

2) Die Erscheinungen der Agglutinierung und Sensibilisierung bilden den Nachweis der bakterisch-toxischen Wirkung eines spezifischen Serums im Reagensglase und gehen der bakterienauflösenden Wirkung voraus oder begleiten sie, deren Nachweis mit Ausnahme von einigen ganz speziellen Fällen im Reagensglase nicht möglich ist.

3) Die Hypothese von Widal und Nicolle, welche darauf hinausgehen, in der spezifisch agglutinierenden Fähigkeit eines Serums eine Infektionserscheinung zu sehen oder sie als das einfache Anzeichen des Ueberganges der spezifischen agglutinierten Substanz in den Organismus zu betrachten, hält einer sorgfältigen Kritik gegenüber nicht stand.

4) Die agglutinierende spezifische Fähigkeit eines Serums folgt im großen und ganzen den Phasen des antibakteriellen Immunisierungsprozesses, sowohl bei der freiwilligen Infektion wie bei der Impfung, genau wie die sensibilisierende Kraft; sie ist wie diese eine Erscheinung der Immunität gegenüber Bakterien, wie dies zuerst Gruber erklärte.

Zur Dosierung des Sensibilisierungsvermögens des zu prüfenden Serums wandte ich die bekannte Methode von Bordet an; zur Dosierung des Agglutinierungswertes wandte ich, wenn der Diphtheriebacillus sich inmitten der Kulturflüssigkeiten in Haufen vereinigt zeigte, die Methode an, Kulturen auf Agar in physiologischer Kochsalzlösung aufzulösen, indem ich die Vorsichtsmaßregel anwandte, genannte Emulsionen durch doppelte Papierfilter zu filtrieren, um Bakterienklümpcnen zu entfernen; ferner benützte ich die Methode der Kulturen im hängenden Tropfen gemäß der Anweisungen von Malvoz zum Studium der Agglutination des Karfunkels; in diesem Falle kann man unter dem Mikroskope die Agglutination der Pilze im Entstehungszustande beobachten.

Die Resultate der Vergleichsversuche, die ich zwischen dem von mir dargestellten Serum und einem Handelsdiphtherieserum angestellt habe, finden sich in folgender Tabelle vereinigt:

| Diphtherieserum | Agglutinationskraft | Sensibilisierungsvermögen |
|---|---|---|
| Serum v. Hunde | 12:100 | deutlich |
| „ „ Instit. Pasteur | — | — |
| „ „ „ zu Bern | — | — |
| „ „ „ „ Brüssel | — | — |

Wenn man bedenkt, daß der Diphtheriebacillus zu der Pilzkategorie gehört, die eine äußerst geringe agglutinogene Kraft besitzt, wie auch eine geringe Agglutinierbarkeit, so ist es klar, daß das Serum des Hundes, der mittels Injektionen von Bakterienkörpern immunisiert worden war, relativ reich an spezifischen Agglutininen ist.

Aus der Untersuchung der oben mitgeteilten Resultate kann man folgenden allgemeinen Schluß ziehen: Das Serum eines Tieres, welches mittels Einimpfungen von Diphtheriebacillen immunisiert worden ist, besitzt, auch wenn die Menge der eingeimpften Pilze keine sehr große war, bakterientötende Eigenschaften, welche die verschiedenen Sera des Handels absolut nicht besitzen.

Darstellung des bakteriolytischen Diphtherieserums mit Hilfe von Einspritzungen sensibilisierter Bacillen.

Nachdem ich so ein Serum erhalten hatte, welches im Reagensglase eine ausgeprägte bakterientötende Wirkung zeigte, war es meine Absicht, experimentell die bakterientötenden Eigenschaften desselben an Tieren festzustellen und eventuell auch seine Heilwirkung beim Menschen zu konstatieren.

Um nun eine Reihe von Versuchen, die wichtigere Schlüsse zu ziehen gestatteten, anstellen zu können, mußte ich mir zunächst eine größere Menge Serum verschaffen, als die war, die mir zu Gebote stand.

Doch hier stellte sich sofort eine ernstliche Schwierigkeit ein, die mich veranlaßte, mit einer gewissen Besorgnis an die Darstellung einer beträchtlichen Quantität des bakterientötenden Serums heranzutreten; diese bestand in der bekannten Empfindlichkeit größerer serumerzeugender Tiere und zumal der Pferde gegenüber subkutanen Injektionen großer Mengen von Diphtheriebacillen. Da griff ich dann zu einem besonderen Mittel, um den Immunisierungsprozeß zu beschleunigen, indem ich den Versuchstieren sensibilisierte Diphtheriebacillen einimpfte.

Als Versuchstier wählte ich eine Ziege, der ich zunächst die Pilzkolonieen von 2 jungen Kulturen von Diphtheriebacillen auf Agar einimpfte; die Pilzkolonieen waren während 12 Stunden in Berührung mit dem sensibilisierenden Serum bei Zimmertemperatur gehalten worden.

Das Impfmaterial wurde folgendermaßen bereitet:

Von der Patina von 2 Kulturen des Diphtheriebacillus in Agar, 48 Stunden alt, wurde in einer Eprouvette mit einer bestimmten Menge des spezifischen Serums eine Emulsion hergestellt (und zwar in einem Verhältnis von 1 Teil Bacillus auf 3 Teile Serum, gemäß den Angaben von Bordet). Nach 12 Stunden, während denen der Reagierzylinder mit der Mischung wiederholt geschüttelt wurde, wurde der Inhalt zentrifugiert und hernach das überstehende Serum von der Masse der Bakterien, die sich auf dem Boden des Zylinders befand, abgegossen; dann wurden diese zu wiederholten Malen mit einer physiologischen, normalen NaCl-Lösung gewaschen, indem man jedesmal die Mischung mit der Turbine zentrifugierte; auf diese Weise wurden innerhalb der Grenzen der Möglichkeit die kleinsten Spuren des Serums völlig entfernt.

Dies geschah, um einen fundamentalen Irrtum auszuschließen, welcher die Resultate dieser Versuche gänzlich gefälscht haben würde; eine Fehlerquelle, die Metschnikoff bei seinen ersten Versuchen über die Schwächung des Bacillus des Karfunkels im Blute der Ziegen nicht vermied.

Wenn man nämlich peinlichst die oben angegebene Methode befolgt, so ist klar, daß man eine eventuelle Verminderung der sensibili-

sierten Pilze, die dem Organismus eingeimpft sind, nicht mit Recht der bakterientötenden Wirkung des spezifischen Serums, das im Injektionsmaterial vorhanden ist, zuschreiben kann; vielmehr ist eine solche der bakteriotoxischen Wirkung der Antikörper zuzuschreiben, welche von den Bakterienzellen im Reagensglase fixiert worden sind.

Zur selben Zeit, als dieses Material einer Ziege subkutan injiziert wurde, wurde bei einer zweiten ungefähr gleich schweren eine subkutane Injektion mit der Patina einer 48 Stunden alten Kultur des Diphtheriebacillus auf Agar gemacht, die mit einer Kochsalzlösung emulsioniert worden war.

4 Stunden später zeigt die Ziege A (welche mit sensibilisierten Bacillen geimpft war) an der Impfstelle eine zirkumskripte Anschwellung, die sich weich anfühlt; von dort saugte ich vermittelst des Rouxschen Hebers einige Tropfen eines dicken, weißlichen Exsudates ab. Die Präparate, die aus diesem Exsudate gemacht wurden, zeigten klar eine große Menge von Leukocyten, die in der überwiegenden Mehrzahl polynuklear (Phagocyten) waren; viele dieser sind gefüllt mit Bacillen, deren Form und Färbbarkeit noch intakt geblieben sind.

Die Ziege B, die mit nicht sensibilisierten Bacillen geimpft worden war, zeigte keine sichtbare Reaktion an der Impfstelle. Ich stellte ein Präparat von einem Tropfen Flüssigkeit dar, den ich von der Impfstelle herausgesaugt hatte. Die Bacillen waren zahlreich und intakt, es war keine Andeutung von Zellen irgendwelcher Art vorhanden.

Nach 6 Stunden zeigt die Ziege A eine beträchtliche Verstärkung der Reaktion an der Impfstelle; die zirkumskripte, halbkreisförmige Anschwellung hat das Volumen einer halben Apfelsine angenommen. Die mikroskopische Untersuchung des Exsudates zeigt deutlich eine außerordentlich große Menge von Leukocyten, die vorwiegend polynuklear sind. Der Uebergang derselben zu Phagocyten ist fast vollendet. Außerhalb der Zellen befinden sich nur äußerst wenig Pilze. Die innerhalb der Zellen befindlichen beginnen deutliche Anzeichen von Degeneration zu geben; dies zeigt sich teils morphologisch (Rückbildung von Formen), teils dadurch, daß die Verwandtschaft zu Farbstoffen verloren geht. Die Temperatur der Ziege um diese Zeit beträgt 39,2°. Sie ist also um $^5/_{10}$ vom Augenblicke der Injektion an, wo das Thermometer 38,7° zeigte, gestiegen (Widerstandstemperatur).

Die Ziege B zeigt an der Impfstelle eine recht ausgedehnte Geschwulst. Die mikroskopische Untersuchung des Exsudates zeigt die Anwesenheit von Leukocyten in geringer Menge; es walten die mononuklearen Formen vor, die polynuklearen sind zum großen Teile mit wohlerhaltenen Bacillen angefüllt. Die Temperatur beträgt 39,4°, während sie im Augenblicke der Impfung 38,4° getrug.

Am folgenden Tage um 8 Uhr vormittags ist bei der Ziege A die Anschwellung an der Impfstelle auf $^1/_3$ zurückgegangen. Mit der Nadelsonde zog ich einige Tropfen eines dicklichen Exsudates heraus; hiervon fertigte ich Präparate an; dieselben erwiesen sich als reich an Leukocyten, die zum großen Teile verstreut waren, dazwischen waren einige wenige Phagocyten voll von Körnchen, die sich mit Eosin und Vesuvin färbten. Temperatur 38,9°.

Bei der Ziege B zeigte sich eine ausgeprägte verteilte Geschwulst, die sich unregelmäßig um die Impfstelle erstreckt. Das Exsudat ist

äußerst reich an Bacillen, während die Zahl der Leukocyten verhältnismäßig gering ist; sie sind meist in der mononuklearen Form vorhanden; die polynuklearen schließen wenige Zellen ein, von denen einige offensichtlich degeneriert sind. Temperatur 40°.

Einige Kontrollversuche, die bei Meerschweinchen mit sensibilisierten und nicht sensibilisierten Diphtheriebacillen angestellt wurden, gaben beständig übereinstimmende Resultate. Wenn die injizierte Menge von sensibilisierten Pilzen der tödlichen Dosis von nicht sensibilisierten gleich ist oder sie nur wenig übertrifft, so übersteht das geimpfte Meerschweinchen mit Sicherheit die Infektion; wenn die injizierte Menge sehr groß ist, so unterliegt das Meerschweinchen schließlich, aber in einer Zeitdauer, die sehr viel größer ist als die, innerhalb deren der Tod des Kontrolltieres eintritt, das mit der tödlichen Dosis von nicht sensibilisierten Bacillen geimpft worden ist.

Prüft man die Resultate der oben angeführten Versuche, so kann man folgendes konstatieren:

1) Die Diphtheriebacillen, welche eine gewisse Zeit lang in Berührung mit einem spezifischen bakterienwidrigen Serum geblieben sind, fixieren aus demselben spezifische, für Bakterien toxische Substanzen (Agglutinierung und Sensibilisierung der Bakterien). Wenn man diese Absorption durch Kontakt einige Zeit fortdauern läßt und die Zahl der Keime genügend ist, so kann man bis zur Erschöpfung der im Serum enthaltenen bakterienwidrigen Prinzipien gelangen.

2) Impft man die sensibilisierten Diphtheriebacillen subkutan einem empfänglichen Tiere in einer Menge ein, die die tödliche Dosis von nicht sensibilisierten Bacillen übertrifft, so verursachen sie eine äußerst rege Bildung von Phagocyten in allen ihren Phasen (deutliche Aenderung des chemischen Verhaltens, Einhüllung, Verdauung der eingehüllten Bacillen in den Zellen).

3) Impft man Quantitäten von sensibilisierten Pilzen, welche ganz bedeutend die tödliche Dosis von normalen Bacillen übersteigen, ein, so ruft dies einen unvollständigen Reaktionsprozeß des Organismus hervor, der dann schließlich nach verhältnismäßig langer Zeit unterliegt.

Die Resultate dieser ersten Versuche ermutigten dazu, die Darstellung eines bakterientötenden Diphtherieserums mit Hilfe der Methode subkutaner Injektionen von empfindlich gemachten Diphtheriebacillen in Angriff zu nehmen.

So setzte ich denn bei der Ziege A den Immunisierungsprozeß nach dieser Methode fort und gelangte nach Verlauf eines Monates, in dem die Ziege sehr starke subkutane Dosen von sensibilisierten Bakterien erhielt (bis zur Menge von ca. 50 Kulturen des Diphtheriebacillus auf Agar auf einmal) dazu, ein Serum zu erhalten, das mit einem Agglutinierungswert von 1 : 30 und einem ausgeprägten Sensibilisierungsvermögen ausgestattet war. Der im Reagensglase nachgewiesenen bakterientötende Wirkung entsprach eine ausgeprägte bakterientötende Wirkung bei den Versuchstieren (Meerschweinchen).

Während des in Rede stehenden Immunisierungsprozesses beobachtete ich die folgende bemerkenswerte Tatsache: Nachdem nach einer Anzahl

von Injektionen mein Vorrat an bakterientötendem Serum erschöpft war, wollte ich zum Zwecke der Sensibilisierung der Bacillen im Reagensglase mich des Serums der Ziege selbst bedienen, welches den Bakterien gegenüber schon eine schwach toxische Wirkung besaß.

Der Versuch gelang jedesmal vollständig während der ganzen noch übrigen Zeit der Immunisierung; es konnte bei diesen Injektionen im Blute der Ziege das Auftreten von Antialexin und Autohämolysin nicht festgestellt werden, ein Umstand, der im Widerspruch gestanden hätte zu den Beobachtungen von London und Metschnikoff über die Möglichkeit der Produktion von Autocytolysin in einem Organismus.

Auch in diesem Falle lag es nahe, die Bildung eines autoerythrolytischen Prinzips im Blute der Ziege zu erwarten, wenn man bedenkt, daß man sowohl ein erythrolytisches Serum erhalten kann, wenn man dem betreffenden Organismus Zellen verschiedener Natur einimpft, aus denen vorher jegliche Spur Blut entfernt worden ist (von Dungern, Moxter), als auch, wenn man Albumin oder Globulin einimpft, natürlich solches, welches von demselben Organismus herrührt, für welchen man ein hämolytisches Serum bereiten will, wie dies neuerdings Wolf gezeigt hat.

Es konnte nun die Menge Serum, welche von Zeit zu Zeit der Ziege zusammen mit den sensibilisierten Diphtheriebacillen eingeimpft wurde, natürlich nicht groß sein, mußten wir doch bedenken, daß die Zahl der Impfungen eine große war, und daß im Protoplasma der sensibilisierten Bacillen sich mit Sicherheit ein großer Teil Globulin zusammen mit den spezifisch aktiven Prinzipien des Serums fixiert finden mußte; denn von letzteren ist das Globulin stets untrennbar, wie wir dies seit langer Zeit aus den Untersuchungen von Belfanti und Carbone wissen.

Die Kontrollversuche, die bei den Versuchstieren mit diesem Serum und einigen Handelsseras, nämlich dem vom Institut Pasteur, dem vom Institut für Serumtherapie in Bern, dem vom Institut für Serumtherapie in Brüssel ausgeführt wurden, ergaben stets das gleiche Resultat, daß nämlich diese Sera eine sehr geringe Wirkung haben; es gelang niemals, mit diesen die Tiere zu retten, denen tödliche Dosen des Versuchsbacillus eingeimpft worden waren; ihre Wirkung beschränkte sich vielmehr lediglich darauf, den Infektionsprozeß zu verzögern, wenn man sie in großen Mengen anwandte; dagegen gelang es bei Anwendung des bakterientötenden Serums, die Injektion von sehr starken Dosen desselben Bacillus, die die tödliche Dosis weit übertrafen, zu neutralisieren.

Versuchen wir nunmehr die richtige Erklärung für die beiden Erscheinungen zu finden, welche in den oben beschriebenen Versuchen vorherrschen: Zerstörung der sensibilisierten Bakterien im Innern der Versuchstiere, starke Immunisation gegenüber Bacillen, hervorgerufen durch aufeinanderfolgende Impfungen von sensibilisierten Bacillen.

Nach der Hypothese von Ehrlich sollten dies Erscheinungen des Immunitätsprozesses sein. Diese Hypothese wurde, so kann man wohl sagen, bald allgemein in der Wissenschaft angenommen; ich halte es für notwendig, sie kurz in Erinnerung zu rufen, soweit sie die Immunität gegenüber Bakterien betrifft.

Ehrlich nimmt an, daß die Immunität gegenüber Bakterien durch einen Reaktionsprozeß des Organismus hervorgerufen werde, dessen Mechanismus analog demjenigen ist, der Immunität Toxinen gegenüber herbeiführt. Er nimmt an, daß die Bakterienzellen gewisse Atomkomplexe besitzen, welche Verwandtschaft zu gewissen molekularen Nebenketten einiger Zellen eines Organismus besitzen. Diese Molekularketten bilden als solche einen wichtigen Teil der Zusammensetzung dieser Zellen, gehen jedoch auch frei ins Plasma über.

Es wären dann gerade diese freien Molekularketten, welche sich in Kontakt mit den Atomen der Bakterienzellen befinden, für die sie eine spezifische Verwandtschaft zeigen; diese Affinität sättigen sie ab und verhindern so die anderweitige Verbindung mit den Teilen spezifischer Verwandtschaft des Wirtes, die zum Funktionszentrum der Zelle gehören.

Dieser biochemische Prozeß würde nach der Hypothese von Ehrlich die natürliche Immunität eines Organismus gegenüber einer Infektion erklären.

Die freien Molekularketten (beim Wirtstier) bilden also das physiologische bakterientötende Mittel; es besteht aus 2 Elementen: dem Komplement [1]) und dem Zwischenkörper oder dem Ambozeptor.

Der Ambozeptor wirkt als Zwischenkörper zwischen der Bakterienzelle und dem Komplement, dem der aktive, bakteriolytische Anteil zukommen soll.

Die wiederholte Einführung von Bakterienkörpern in den Organismus sollte ihre Neutralisation in diesen physiologischen Bakteriolysinen finden; gegen deren Verlust trifft der Organismus oder vielmehr gewisse Zellensysteme Vorkehrungen durch starke Sekretion, die das Erscheinen einer außergewöhnlich großen Menge von Antikörpern (Bakteriolysinen) bestimmt. Auf diese Weise wird der Mechanismus der aktiven Immunität erklärt, die also nach dieser Hypothese dadurch bedingt wäre, daß in dem immunen Organismus eine mehr oder weniger große Menge von Molekularverbindungen vorhanden wäre, welche die künstlichen Bakteriolysine bilden.

Dies sind, ganz kurz zusammengefaßt, die wichtigsten Punkte der Hypothese von Ehrlich, soweit sie die Immunität gegenüber Bakterien betrifft.

Indem wir nun die Resultate der oben mitgeteilten Versuche in Uebereinstimmung mit der Hypothese von Ehrlich, soweit sie den bakteriolytischen Prozeß im Reagensglase und im Organismus bei den sensibilisierten Bakterien betraf, zu setzen suchten, fiel es uns zunächst auf, daß die Bezeichnung: bakteriolytische Substanz, die man allgemein den bakterientötenden Prinzipien gibt, die in den spezifischen Seras enthalten sind, im engen Sinne des Wortes irrtümlich ist. In der großen Mehrzahl der Fälle zeigen die bakterienwidrigen Prinzipien dieser Sera im Reagensglase Pilzen gegenüber, welche sie erzeugt haben, nur eine merkliche dynamische Wirkung (Agglutinierung).

---

1) Synonyme Ausdrücke: Alexin (Bordet), Cytase (Metschnikoff), thermolabile, sensitive Substanz (Pfeiffer).

2) Synonyme Ausdrücke: Sensibilisierende Substanz (Bordet), fixierende Substanz (Metschnikoff), Bindemittel (Desmon, London), Copula (Müller), thermostabile Substanz (Pfeiffer), Antikorpus (Buchner).

Wenn die sensibilisierende Substanz und das Alexin beim Kontakt mit den Pilzen gleichzeitig vorhanden sind, so sind in der Tat die für die Bezeichnung Bakteriolyse notwendigen Bedingungen erfüllt, doch auch sie bewahrheitet sich im Reagensglase nicht, selbst dann nicht, wenn das Alexin im Ueberschuß vorhanden ist, das nach Ehrlich das digerierende Prinzip des Bakteriolysins wäre.

Die neuesten Beobachtungen zeigen uns überwiegend, daß Bakterientoxine nicht nur im Reagensglase die vegetativen Eigenschaften eines Pilzes nicht verringern, daß man vielmehr im Reagensglase die Immunisierung dieses Pilzes gegenüber den Antikörpern erreichen kann, wenn man ihn daran gewöhnt, bei Gegenwart eines bakterienwidrigen, spezifischen Serums, welches man den Kulturflüssigkeiten zugesetzt hat, zu leben und sich zu vermehren (Ainley Walker).

Andererseits sehen wir, daß die sensibilisierten Bacillen, welche den Tieren subkutan injiziert worden sind, eine ganz ausgesprochene chemische Wirkung zeigen, indem sie einen stark wirkenden Köder für die Phagocyten bilden, von denen sie leicht eingehüllt und verdaut werden.

In unserem Falle also zeigt es sich klar, daß die bakterienwidrigen Substanzen, welche in einem spezifischen Serum enthalten sind, auf das Protoplasma der Bakterien wie toxische Substanzen gewirkt haben, daß aber der wahre bakteriologische Prozeß sich im Innern der Phagocyten vollzogen hat, und daß an seiner Beendigung nicht nur die künstlichen und physiologischen Bakterientoxine teilgenommen haben, denn diese zeigen im Reagensglase keine auflösende Wirkung, daß vielmehr noch ein neuer Faktor, der aller Wahrscheinlichkeit nach dem Protoplasma der Phagocyten innewohnt, auf den Plan getreten ist.

Wir kommen nun zum Prozeß der Immunisierung den Bakterien gegenüber, der durch aufeinanderfolgende Impfungen mit sensibilisierten Bacillen herbeigeführt wird, und fragen uns, ob wir in der Hypothese von Ehrlich eine richtige Erklärung seines Mechanismus finden können.

Nach dieser Hypothese wäre die Herbeiführung der Immunität vermittelst aufeinanderfolgender Injektionen von Bakterienkörpern in einen Organismus dem Umstande zu verdanken, daß, wie wir gesehen haben, einige Zellen eine Steigerung ihrer Tätigkeit zeigen, indem sie den Verlust von Molekularverbindungen, die sich mit bestimmten komplexen Atomgruppen des Bakterienkörpers kombinieren, zu denen sie eine spezifische Affinität zeigen, zu ersetzen bestrebt sind. Der Ueberschuß dieser Neutralisierungssubstanzen, der durch diese außergewöhnlich starke, funktionale Sekretion verursacht wird, verbleibt im Plasma und bildet die **bakteriolytischen Prinzipien.**

Indes mag es hier gestattet sein, zu bemerken, daß man mit der Injektion von sensibilisierten Pilzen dem Organismus eine Menge von Desmon (sensibilisierender Substanz) zuführt, die genügt, um die Verdauung der Bakterienzellen von seiten des Komplementes (Alexins) zu erklären. Man versteht also nicht, wie in diesem Falle die Bildung von Desmon im Ueberschuß einer funktionellen Hypersekretion zuzuschreiben sein soll, die doch nur darauf ausgehen soll, den Verlust zu ersetzen, der in unserem Falle nicht eintritt.

Bei der Klarlegung dieser Erscheinung erinnere ich an eine andere, die gleichfalls an Hand der Hypothese von Ehrlich über die Immuni-

tät nicht erklärbar ist; es ist dies die Reproduktion des Antitoxins, die auf große Blutabzapfungen bei Tieren folgt, die gegen den Tetanus und die Diphtheritis immunisiert worden sind (Roux und Vaillard, Salomonsen und Madsen).

Es bleibt jedoch das praktische Resultat, das allerdings an Hand der mehr oder weniger genialen und hypothetischen Theorien nicht erklärbar ist, daß nämlich die aufeinanderfolgenden Injektionen von immer wachsenden Mengen sensibilisierter Pilze in dem Organismus einen starken Reaktionsprozeß einleiten, dessen unmittelbare Folge die Bildung von Antikörpern und infolgedessen die Herbeiführung der Immunität ist.

Daß der Mechanismus der Immunität gegenüber Bakterien bewirkt nicht nur die Hypersekretion der **sensibilisierenden Substanz**, die nach Ehrlich in kleinen Mengen schon vorher im Organismus vorhanden sein soll und mit dem Alexin das physiologische Bakteriolysin bildet; diese sollte den wirklich spezifischen Teil der künstlichen Bakteriolysine bilden.

Aus den Resultaten unserer Versuche geht vielmehr klar hervor, daß der Immunisierungsprozeß eine organische Fähigkeit vermehrt, die aller Wahrscheinlichkeit nach dem Protoplasma der Phagocyten innewohnt, die man im Reagensglase nicht nachweisen kann, die aber im Innern des Organismus oder genauer im Innern der Phagocyten den bakteriolytischen Prozeß in Gegenwart der sensibilisierenden Substanz und des Alexins herbeiführt.

Diese Fähigkeit scheint in beschränktem Maße im Organismus zu präexistieren, wie dies aus den Resultaten der Versuche mit sensibilisierten Pilzen hervorgeht.

Wir haben nämlich gesehen, wie im Falle der Injizierung von Mengen von sensibilisierten Bacillen, welche der tödlichen Dosis von nicht sensibilisierten gleich oder überlegen war, eine völlige Verdauung der Bacillen innerhalb der Zellen stattfindet, während bei Injektionen von sehr starken Dosen von sensibilisierten Bacillen die Bildung der Phagocyten und die Bakteriolyse unvollständig sind und diejenigen Pilze, welche dem Reaktionsprozesse des Organismus widerstehen, schließlich, obwohl sie sensibilisiert sind, das Uebergewicht erhalten, weil die physiologisch bakteriolytische Kraft erschöpft ist.

## Heilwert des bakterienwidrigen Diphtherieserums bei der Diphtheritis des Menschen.

Wenn nun auch die Diphtheritis offenbar zusammen mit dem Tetanus, als dem Prototyp der Intoxikationen durch Bakterienprodukte, betrachtet werden muß und die rationelle Indikation für ihre Heilung demzufolge darin bestehen muß, zunächst die Neutralisierung der von den Pilzen erzeugten und in die Zirkulation eingeführten Toxine zu bewirken, so darf man doch, namentlich in besonderen Fällen, die Wirkung eines Medikamentes nicht außer acht lassen, das direkt auf das Protoplasma der Bakterien wirkt.

Ich verstehe hier unter besonderen Fällen jene Fälle von Diphtheritis, in denen die Pseudomembranen sich in die primären Respirationswege senken, die Trachealschleimhaut und die Verzweigung der großen

Bronchien bedecken und bisweilen fast völlig das Bronchiensystem befallen.

In solchen und ähnlichen Fällen verlangt man eine direkte energische Aktion, um das mechanische Hindernis, das die Pseudomembranen der Respirationstätigkeit entgegenstellen, zu entfernen, man verlangt die Neutralisation der Toxine, welche auf einer so großen absorbierenden Fläche in die Zirkulation gelangen.

Von der Tracheotomie allein wissen wir, daß sie nur im stande ist, das größte mechanische Hindernis zu beseitigen, indem sie die behinderte und unterbrochene Atmung erleichtert; sie verhindert jedoch nicht die beständige Vermehrung der Pilze und infolgedessen die Neubildung der Pseudomembranen. Ein Diphtherieserum, das mit starken antitoxischen Eigenschaften ausgerüstet ist, wird in diesem Falle für die Neutralisierung der Toxine vorzügliche Dienste tun, aber es wirkt nur indirekt auf die Bakterien, deren Widerstandsfähigkeit, wie wir wissen, sehr ausgesprochen ist. In diesen Fällen, in denen man gerade größtenteils so leicht Rückfälle in die Diphtheritis beobachten kann, werden die Antitoxine, auch wenn sie in großen Mengen in den Organismus eingeführt worden sind, aus demselben entfernt, und die Pilze, welche in ihm in latentem Lebenszustande zurückblieben, gelangen dazu, von neuem ihre schädliche Wirkung auszuüben.

Gerade in diesen Fällen erweist sich a priori die Tätigkeit eines bakterientötenden Serums als wirksam, nämlich in den Fällen, in denen die Heilwirkung von einer energischen vorbeugenden Wirkung nicht getrennt werden darf.

Uebrigens muß man bemerken, daß bei der Diphtheritis des Menschen noch Begleitumstände in Betracht kommen, welche man bei der Reproduktion der Krankheit bei Versuchen gewiß nicht trifft, so daß nur das praktische Verfahren beachtenswerte Aufschlüsse liefern kann; so habe ich gerade durch die Praxis der Injektionen beim Menschen den Heilwert des Serums meiner Bereitung feststellen wollen.

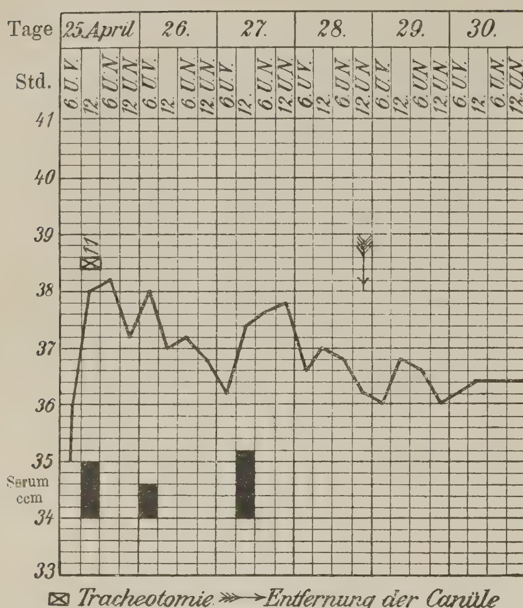
Die Fälle, bei denen ich dieses Serum anwandte, dessen antitoxischer Wert als sehr klein betrachtet werden kann (15 I.E. per ccm), waren im ganzen 7; die erhaltenen Resultate waren stets sehr gut.

Ich will mich hier auf die Wiedergabe zweier Fälle beschränken, die besonderes Interesse bieten; bei ihnen wurde das in Rede stehende Serum in der Abteilung für Diphtheritis im Hospital für Infektionskrankheiten zu S. Paola angewandt.

I. Fall.

Rosa Piccini. 3 Jahre alt. Sie kommt ins Hospital am 25. April 1902 morgens 10½ Uhr. Beobachtungen: Nach den Erzählungen der Eltern des Kindes datiert die Krankheit seit 2 oder 3 Tagen, aber die Beschwerden sind erst in der vorhergehenden Nacht gekommen. Die Tätigkeit der Respirationsorgane hat fast völlig aufgehört. Man bemerkt deutliche Zeichen von Asphyxie (Cyanose der Lippe und der Nägel der Hände). Völlige Entkräftung. Tiefe Körpertemperatur: 35°. Pulsader fadenförmig, Tachycardie, Pulsschläge 150 per Minute. Bei der Untersuchung der Kehle kann man nicht deutlich Pseudomembranen entdecken, weil sie erst in der Tiefe über der Tracheenschleimhaut beginnen.

Schnell wird die dringend nötige Tracheotomie ausgeführt um 11 Uhr morgens. Die Incision, vermittelst der Einführung einer Kanüle ausgeführt, bringt eine dichte, speckartige Pseudomembran zum Vorschein, die über der Tracheenschleimhaut lagert.




Die bakterioskopische und bakteriologische Untersuchung dieser Membran gibt beim Suchen nach dem Bacillus von Loeffler positive Resultate. Nachdem die Operation um $11^1/_2$ Uhr vormittags beendet ist, werden in der Bauchgegend 5 ccm des bakterientötenden Diphtherieserums injiziert, dessen antitoxischer Wert 15 I.E. per ccm betrug. Der gesamte antitoxische Wert des injizierten Serums ist also ungefähr 75 I.E. Gegen 4 Uhr wirft das Kind in einem heftigen Hustenanfall aus der Kanülenöffnung eine Pseudomembran von ungefähr 2 cm Länge aus, deren Dicke 2—3 mm beträgt und die von zahlreichen lymphoiden Elementen und von Diphtheriebacillen, die in dichten charakteristischen Zooglöen vereinigt sind, gebildet wird.

Gegen 7 Uhr abends versperrt eine große Pseudomembran die Oeffnung der Kanüle, von der sie nicht entfernt werden kann, so daß man genötigt ist, die Kanüle herauszuziehen und die Entfernung mit einer Pincette zu bewirken.

Diese neue Membran von der Länge von fast 3 cm und der Dicke der vorhergehenden von röhrenförmiger Gestalt zeigt deutlich den Abdruck der Tracheenschleimhaut.

26. April. Obwohl am Morgen das Allgemeinbefinden der Kranken verhältnismäßig gut ist, ist doch die Atmung noch stark behindert. Gegen 10 Uhr vormittags wird eine subkutane Injektion von 3 ccm (45 I.E.) ausgeführt.

Gegen 1 Uhr nachmittags wird aus der Operationswunde nach Entfernung der Kanüle eine Pseudomembran ausgestoßen, die den deutlichen Abdruck des Beginnes des Atmungssystemes zeigt mit der Gabelung der großen Bronchien und der Mündung der kleinen Bronchien.

27. April. Das Allgemeinbefinden ist andauernd befriedigend, doch bemerkt man noch eine Behinderung des tiefen Atemholens. Um 12 Uhr wird eine Injektion von 6 ccm des Serums ausgeführt (90 I.E.). Gegen 2 Uhr werden durch die Oeffnung der Kanüle kleine Bruchstücke von Pseudomembranen ausgeschleudert, die aus dem tieferen Teile der Bronchien herrühren.

28. April. Das Allgemeinbefinden ist andauernd vorzüglich. Die Kanüle wird entfernt und die Wunde eng umwickelt. Die Atmung durch den Mund wird schnell lebhaft und in den folgenden Tagen ist nichts weiter zu thun, als die Wunde verheilen zu lassen, deren Vernarbungsprozeß regelmäßig fortschreitet.

## II. Fall.

Albertino Leão. 2 Jahre alt. Er kommt ins Hospital am 30. Juli 1902 um $11^1/_2$ Uhr.

Beobachtungen: Die Krankheit datiert vermutlich seit 2 Tagen. Die Beengung der Kehle ist sehr stark. Das Empfindungsvermögen hat fast aufgehört. Temperatur: 35,4°. Pulsschläge 160 per Minute.

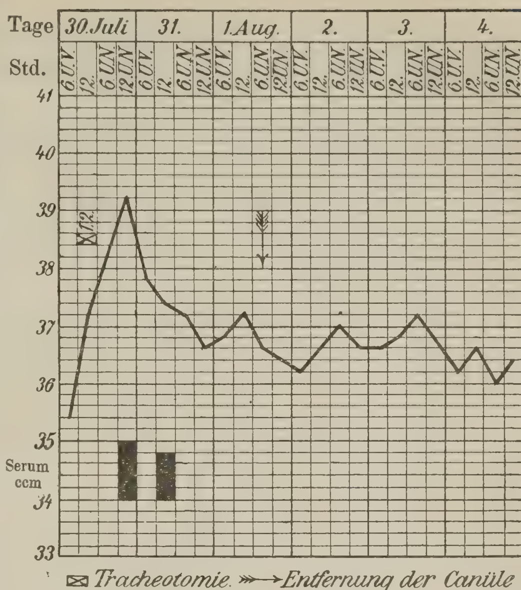
Die Inspektion der Kehle ergibt zahlreiche Pseudomembranen, die in der Tiefe über der Tracheenschleimhaut lagern und sich nach unten fortsetzen.

Um 12 Uhr wird die dringend notwendige Tracheotomie ausgeführt.

Die Untersuchung der Pseudomembranen, welche von dem operativen Einschnitte freigelegt waren, ergab die Anwesenheit von Diphtheriebacillen.

In den auf die Tracheotomie folgenden Stunden zeigte sich zwar anfangs eine vorübergehende Besserung, wie sie in diesen Fällen dem operativen Eingriff zu folgen pflegt, das Befinden des Kranken wird dann aber von neuem schlechter. Als sich gegen 9 Uhr abends Erstickungsanfälle zeigen, werden 5 ccm Serum subkutan injiziert (75 I.E.).

Gegen 12 Uhr stößt der Kranke durch die Kanüle eine große Pseudomembran aus, die die Gestalt des Trachealkanales hat.




31. Juli. Das Allgemeinbefinden ist bedeutend gebessert, doch ist die Atmung noch behindert. Gegen 11 Uhr vormittags wird eine Dosis von 4 ccm Serum (60 I.E.) injiziert. Gegen 1 Uhr findet die Ausstoßung einer neuen Membran statt, mit einem Abdruck des tiefen Teiles der Trachea und der Gabelung der Bronchien.

1. Aug. Das Allgemeinbefinden ist anhaltend gut. Die Atmung ist regelmäßig. Die Besserung hält in den folgenden Tagen an.

Die Kanüle wird herausgenommen. Die operative Wunde heilt schnell.

Ueberblicken wir nun diese beiden klinischen Fälle von besonderer Schwere, so ergibt sich klar und deutlich die Schlußfolgerung, daß die energisch bakterientötende Wirkung des angewandten Serums schnell die völlige Entfernung der Pseudomembranen und daraufhin die Heilung herbeigeführt hat. Hier kann man nicht von einer antitoxischen Wirkung des Serums sprechen, wenn man den geringen antitoxischen Wert des angewandten Serums bedenkt (210 I.E. in 60 Stunden im Körper im Fall I, 135 I.E. in 14 Stunden im Körper im Fall II).

Vielleicht kann man annehmen, daß in diesen Fällen kein äquivalentes Verhältnis zwischen der Menge der Pilze und der in die Zirkulation gebrachten Toxine bestanden habe, da die aufliegende Schicht der Membranen und demgemäß die absorbierende Fläche außergewöhnlich groß gewesen sei. Wie dem auch sei, nicht selten befindet man sich in der Praxis derartigen Fällen gegenüber, in denen die Wirkung der Diphtheriesera, die lediglich starke antitoxische Eigenschaften haben, sich ungenügend erweist, um die Krankheit völlig niederzukämpfen, da ihre Wirkung sich darauf beschränkt, die in der Zirkulation befindlichen Toxine zu neutralisieren und den Organismus mit Antitoxinen zu sättigen, die in einem recht kurzen Zeitraume, wenigstens zum größten Teile, wieder entfernt werden.

Es scheint mir, daß der gänzlichen Abwesenheit von Antikörpern in dem größten Teile der Diphtheriesera des Handels die nicht selten beobachteten Rückfälle in die Diphtheritis zuzuschreiben sind.

## Schlußfolgerungen.

Die Schlüsse, welche wir aus den gesamten oben mitgeteilten Versuchen ziehen können, sind folgende:

1) Führt man sensibilisierte Diphtheriebacillen in einen empfänglichen Organismus ein, so werden dieselben viel leichter verdaut als die nicht sensibilisierten.

2) Vermittelst aufeinanderfolgender subkutaner Injektionen von sensibilisierten Diphtheriebacillen wird ein empfänglicher Organismus in verhältnismäßig kurzer Zeit immun.

3) Der Prozeß der Hyperimmunisierung gegenüber Bakterien bewirkt in dem Organismus nicht nur die Bildung von Substanzen, die Bakterien gegenüber toxisch sind (sensibilisierende Substanz, Agglutinin), sondern verstärkt auch das physiologische Vermögen, das aller Wahrscheinlichkeit nach dem Protoplasma der Leukocyten innewohnt, von dem auch nach vielen Beobachtern Alexin und die sensibilisierende Substanz herstammen.

4) Dank dieser Fähigkeit findet die Bakteriolyse in den Zellen statt bei Gegenwart von Bakteriengiften, die man im Reagensglase nachweisen kann.

5) Das Serum aus dem Blute von Tieren, die nach dieser Methode hyperimmunisiert sind, zeigt energische bakterientötende Eigenschaften in spezifischer Weise, im Reagensglase wie bei den Versuchstieren selbst. Dies steht in dem engen Zusammenhange von Ursache und Wirkung, wenn man das, was von anderen Forschern gelegentlich beobachtet wurde, vergleichend heranzieht; impft man nämlich einem Organismus lebende Pilze ein, so zeigt sich in ihm das Auftreten einer Zahl von Antikörpern, die größer ist als die der abgestorbenen, injizierten Pilze. Es erscheint gleichfalls erklärlich und logisch, daß man die Methode der Impfungen durch Hyperimmunisierung der serumerzeugenden Tiere durch sensibilisierte Pilze der der Impfungen von Pilzen vorzieht, welche mit Hilfe von anderen physischen oder chemischen Mitteln geschwächt sind, da schon die Fixierung der sensibilisierenden Substanz im Reagensglase keine merkliche Aenderung des Protoplasmas der Bakterien herbeiführt, und wenn man auch die Sensibilisierung als ein Digestionsprinzip betrachten will, so hält sie sich klar in den physiologischen Grenzen.

6) Die Anwendung dieses Diphtherieserums, das mit geringer antitoxischer Wirkung ausgestattet ist, aber reich ist an Antikörpern, hat in besonderen Fällen der Diphtheritis beim Menschen eine bemerkenswerte Heilwirkung gezeigt.

Es wäre also sehr nützlich und vernünftig, wenn den Diphtheriesera des Handels außer einem ausgeprägten antitoxischen Wert auch

eine starke bakterientötende Kraft erteilt würde, welche beim Gebrauch des Serums zu prophylaktischen Zwecken unentbehrlich ist und bei der serumtherapeutischen Behandlung der Diphtherie sehr nützlich sein kann.

Staatliches bakteriologisches Institut zu S. Paolo. Brasilien.

---

*Nachdruck verboten.*

# Ueber die Spezifizität der Serodiagnostik der Tuberkulose.

[Aus dem k. k. serotherapeutischen Institute im Rudolf-Spitale in Wien (Vorstand: Prof. R. Paltauf).]

Von

Dr. **Philipp Eisenberg**, dam. Aspiranten an der II. med. Klinik in Wien.

und

Dr. **Ernst Keller**, Operateur an der geburtshilflichen Klinik Hofr. Chrobak in Wien.

Die große Bedeutung der Frühdiagnose der Tuberkulose macht es begreiflich, daß seit Jahren Kliniker und Bakteriologen eifrig bemüht sind, verläßliche Lokal- wie Allgemeinsymptome ausfindig zu machen, die eine feste Basis für die Diagnose abgeben könnten. Aber trotz des großen Aufwandes von Arbeit, die darauf verwendet wurde, besitzen wir zur Zeit noch kein diagnostisches Mittel, das absolut zuverlässig und praktisch gut verwendbar wäre. Von den physikalischen Lokalsymptomen wie von den konstitutionellen Allgemeinerscheinungen müssen wir dabei absehen, da sie in Fällen von manifester Tuberkulose wohl genügen, in solchen aber von latenter Erkrankung, wo die Diagnose am wichtigsten erscheint, nur zu oft im Stiche lassen oder gar zu Täuschungen Anlaß geben. Von den wissenschaftlich wohlbegründeten, ätiologisch-diagnostischen Mitteln wird bei uns die Tuberkulinreaktion nur selten angewendet, der Bacillennachweis aber bleibt zuweilen trotz gewissenhaftester Untersuchung lange Zeit hindurch negativ (1), oder ist wegen mangelnden Auswurfs unausführbar. Dasselbe läßt sich auch von dem von Levy und Bruns (3) neuerdings hervorgehobenen Nachweis von Bacillen durch das Tierexperiment sagen.

Es wird deshalb wohl gerechtfertigt erscheinen, daß sich einer neuen diagnostischen Methode, und zwar einer, die in die Klasse der ätiologischen gehört, die Aufmerksamkeit der Kliniker und Bakteriologen zuwendet. Als solche proklamierten im Jahre 1898 S. Arloing und P. Courmont ihre Serodiagnostik der Tuberkulose. Die Versuche von Park (4), mit Serum von Tuberkulösen in Emulsionen von zerriebenen Tuberkulosekulturen Agglutination zu erzielen, fielen negativ aus. Es fehlte die erste Vorbedingung für Agglutinationsversuche, eine homogen getrübte Kultur, aus isolierten Einzelindividuen bestehend. Erst den obengenannten Forschern gelang es, durch zielbewußtes Vorgehen eine solche zu erhalten. Sie züchteten einen Tuberkulosestamm auf Kartoffeln, deren unterer Teil durch Neigung des Kulturglases von dem 6 Proz. Glycerin enthaltenden Kondenswasser bespült wurde. Die oberflächlichsten,

am losesten haftenden Individuen wurden auf diese Weise langsam aufgeschwemmt und trübten nach einer gewissen Zeit die Kondensflüssigkeit ziemlich homogen. Mit dieser Flüssigkeit wurden nun Bouillonkolben geimpft und einige Mal täglich geschüttelt, um die etwa sich bildenden Agglomerate zu zerstören. Nach einer Reihe von Generationen, die in dieser Weise behandelt wurden, gelang es, eine völlig homogene Kultur zu erzielen, die folgende Eigenschaften aufweist: Ihr Wachstum ist schneller als das einer gewöhnlichen Tuberkulosekultur, da schon nach ca. 4 Tagen eine Trübung eintritt, das Wachstum findet auch in gewöhnlicher Bouillon ohne Glycerinzusatz statt. Die Kultur besteht aus isolierten Bacillen, die angeblich eigenbeweglich sind, in ihrem Jugendzustande keine oder nur geringe Säurefestigkeit aufweisen, welche sie erst in späteren Stadien erlangen. Nach längerem Stehen bildet sich ein Bodensatz aus verklumpten Bakterien und beim Aussetzen des Schüttelns bildet sich eine Oberflächenhaut. Die Virulenz der Kultur ist erheblich herabgesetzt, da auch nach intraperitonealer Inokulation von größeren Mengen erst nach einigen Monaten tuberkulöse Veränderungen im Netz sich ausbilden, eine Generalisation der Tuberkulose aber ausbleibt. Die Kulturen gedeihen auch auf gewöhnlichem Agar, wo sie schmierigweiße, üppige, feuchtglänzende Beläge bilden. Als bestes Kulturmedium erweist sich Bouillon mit Zusatz von 2 Proz. Pepton und 6 Proz. Glycerin. Die Prozedur des Homogenisierens ist, wie wir sehen, ziemlich mühevoll und zeitraubend und gelingt trotz eifriger Bemühungen bei vielen Kulturen überhaupt nicht. Die Veränderungen, die die Kulturen bei diesem Vorgang erleiden, sind sehr tiefgreifend, ihre Morphologie weist eine viel größere Variabilität auf, als die gewöhnlicher Kulturen, doch gewinnen sie den normalen Charakter wieder, wenn man sie längere Zeit unter gewöhnlichen Bedingungen fortzüchtet.

Mit der so beschaffenen Kultur stellten nun Arloing und Courmont ihre Agglutinationsversuche an, indem sie sie in engen Röhrchen mit dem zu prüfenden Serum im Verhältnis von $^1/_5$, $^1/_{10}$ und $^1/_{20}$ mischten. Die Röhrchen werden am besten in einem Winkel von $45^0$ geneigt gehalten, das Resultat, das sich in einer mehr oder minder vollkommenen Klärung der oberen Schichten und Bildung eines krümeligen Bodensatzes kundgibt, nach 10—20 Stunden konstatiert. Als unterer positiver Grenzwert wird $^1/_5$ angesehen, über $^1/_{20}$ steigt derselbe nur in seltenen Fällen. Auf diese Weise prüften nun Arloing und Courmont die Agglutinationskraft des menschlichen Serums in 186 Fällen (ich gebe hier die neueste Statistik wieder (11) mit folgendem Ergebnis: Unter 106 klinisch tuberkulösen Individuen gaben 96, d. i. 91 Proz., eine positive Reaktion; unter 60 Kranken, bei denen klinisch keine Tuberkulose zu konstatieren war, 26, d. i. 43 Proz., unter 20 anscheinend gesunden Individuen 6, d. i. 30 Proz. Sie schließen nun aus diesen Ziffern, daß einerseits die von ihnen angegebene Reaktion sehr zuverlässig ist (91 Proz. positiver Resultate unter den Tuberkulösen), andererseits, daß die latente Tuberkulose selbst unter anscheinend vollkommen gesunden Menschen viel häufiger ist, als man sonst anzunehmen pflegt (43 Proz. resp. 30 Proz.). Die Bekräftigung dieser letzteren Ansicht finden sie bei Beck (2), der bei 2137 Tuberkulinreaktionen (mit Ausschluß sicher Tuberkulöser) 1154, d. i. 54 Proz. positiver Resultate bekam. Weiter fanden sie, daß auch tuberkulöse Exsudate eine deut-

liche Agglutinationswirkung entfalten; sie untersuchten 20 pleuritische Exsudate; von den 11 klinisch tuberkulösen gaben 10 ein positives Resultat, von den 9 klinisch nichttuberkulösen 4, unter 13 ascitischen Flüssigkeiten gaben 5 tuberkulöse ein positives, 8 von Lebercirrhosen stammende ein negatives Resultat; 8 Exsudate von tuberkulösen Gelenkserkrankungen gaben schwach positive Reaktionen. Um nähere Aufklärungen über die Reaktion zu erlangen, untersuchten nun Arloing und Courmont Sera von gesunden und tuberkulösen Tieren auf ihre Agglutinationskraft; unter den normalen Seris zeigte dasjenige von Meerschweinchen und Kaninchen keine Wirkungen, das des Rindes und der Ziege eine schwache, das des Hundes eine Agglutinationskraft von $^1/_5$—$^1/_{20}$, was sie dahin erklären, daß die Agglutinationsfähigkeit ein Maßstab sei für die Widerstandskraft der gegebenen Species gegenüber dem Tuberkulosegift. Bei tuberkulös infizierten Tieren fanden sie, daß je schwächer das eingeimpfte Virus, und je widerstandsfähiger die Species ist, desto höhere Werte resultieren, so z. B. ergaben sich bei den wenig empfänglichen Hunden nach Inokulation schwach virulenter Kultur Werte von $^1/_{200}$—$^1/_{800}$. Darin glauben sie die Erklärung gefunden zu haben für die Tatsache, daß stark vorgeschrittene Tuberkulosen nur schwach positive oder auch negative Resultate geben; das Sinken der Agglutinationskraft wäre dabei ein Indikator für die verminderte Widerstandsfähigkeit des Organismus.

Das wäre kurz zusammengefaßt das Ergebnis dieser Untersuchungen, wie es nunmehr in einer Reihe von Publikationen der genannten Autoren vor uns liegt. Auch fehlte es bald nicht an bestätigenden Untersuchungen und zwar vorwiegend von seiten französischer Forscher; so erhielten Mongour und Buard bei 17 klinischen Tuberkulosen 17 positive Resultate, dagegen bei 11 klinisch nichttuberkulösen Kranken nur 3. In einer zweiten Reihe von Beobachtungen fanden sie bei 14 Tuberkulösen 13 positive Reaktionen, bei 11 Nichttuberkulösen nur eine. Buard fand bei 25 tuberkulösen Kindern 25 positive Reaktionen. Auch G. Courmont bestätigte im wesentlichen die Zuverlässigkeit der neuen Serodiagnostik. Eine rückhaltslose Anerkennung der Methode finden wir auch in der Arbeit von Bendix aus der Leydenschen Klinik, der bei 36 Tuberkulösen 34mal positive Resultate bekam, bei 6 Nichttuberkulösen nur negative; die 2 Sera, die unter den Tuberkulösen negatives Resultat gaben, stammten von kachektischen Phthisikern, was mit den Angaben von Arloing und Courmont übereinstimmt. Diese Tatsache wurde auch von Rothamel an 20 Fällen von Tuberkulose in verschiedenen Stadien demonstriert. Unter den Franzosen ist es nur Dubbard (22), der, allerdings ohne nähere Angaben zu machen, sich der neuen Methode gegenüber ablehnend äußert, indem er sagt, „seine Beobachtungen ließen ihn wegen der Inkonstanz der Reaktion an der Berechtigung ihrer Anwendung für die Diagnose, speziell die Frühdiagnose der Tuberkulose zweifeln“. In der letzten Zeit sind 2 Arbeiten erschienen, die, auf größeres Material gestützt, die Zuverlässigkeit und Begründung der neuen Serodiagnostik in Abrede stellen. Beck und Rabinowitsch untersuchten das Serum von 73 Kranken; unter den 39 Tuberkulösen gaben 11, d. i. 28 Proz., eine positive Reaktion, unter den 34 Nichttuberkulösen 12, d. i. 35 Proz.; selbst wenn man die 5 Tuberkuloseverdächtigen den Nichttuberkulösen zurechnet und einen

Fall mit Spitzeninduration den Tuberkulösen, bekommt man 35 Tuberkulöse mit 11 positiven Reaktionen, d. i. 31 Proz., 38 Nichttuberkulöse mit 12, d. i. ebenfalls 31 Proz. Von 12 Fällen, die positive Tuberkulinreaktion gaben, agglutinierten nur 3, von 22 mit Nachweis von Tuberkelbacillen im Sputum nur 8. Auch die Tierversuche fielen nichts weniger als günstig aus; unter 3 Seris von gesunden Meerschweinchen agglutinierte eins, unter 8 mit Tuberkulose geimpften 3, unter 2 mit der homogenen Kultur geimpften eins. Von 2 gesunden und 5 mit Tuberkulose geimpften Kaninchen agglutinierte keins, positive Reaktion gab nur ein mit der homogenen Kultur geimpftes. Diese Ergebnisse führen Beck und Rabinowitsch zu dem Schlusse, „daß die von Arloing und Courmont angegebene Fähigkeit der Agglutination des Blutserums überhaupt nicht spezifisch für Tuberkulose ist“ und daß somit auch die Basis für eine Serodiagnostik fortfällt. Aehnlich äußert sich auch C. Fraenkel, der bei 15 Tuberkulösen 5 positive Resultate bekam, d. i. 33 Proz., bei 22 Nichttuberkulösen 5 positive, d. i. 22 Proz.

Angeregt durch die glänzenden Resultate der französischen Forscher sowie die von Bendix, beschlossen wir, dieselben nachzuprüfen, zumal wir durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. S. Arloing in den Besitz einer homogenen Kultur gelangt waren. Im folgenden sind die Resultate dieser Untersuchungen mitgeteilt, die, wie wir hoffen, manches zur Klärung dieser interessanten Frage beitragen können.

Was zunächst die Kultur anbelangt, können wir im wesentlichen die Angaben von Arloing und Courmont bestätigen; sie trübt die 4-proz. Glycerinbouillon ziemlich schnell (in 3—5 Tagen) und homogen, auf schiefem Agar wie auf Löfflerschem Serum gibt sie einen schmierigweißen, feuchtglänzenden Belag. Die Bouillonkulturen entwickeln den der typischen Tuberkulose eigenen aromatischen Geruch; wenn sie älter werden, bildet sich ein krümeliger Bodensatz; wenn man sie längere Zeit ungeschüttelt stehen läßt, klärt sich die Bouillon und die Bakterien ballen sich zu krümeligen Massen zusammen, die entweder am Boden liegen oder ein an die typische Kultur erinnerndes Oberflächenhäutchen bilden, freilich nicht so dick und gefaltet wie in dieser. Die Morphologie der Bakterien ist in diesen Kulturen sehr variabel; neben den dünnen typischen Stäbchen sieht man oft mikrokokkenähnliche glänzende Körnchen, in älteren Kulturen dicke Stäbchen von keulenförmigem Aussehen, zuweilen eigentümliche Riesenformen, aus je zwei zusammenhängenden Keulenformen bestehend, die auch Dubard (22) gesehen und als abortive Hyphen gedeutet hat. Die Verzweigungen, die die Bacillen im Bodensatz solcher Kulturen nach diesem Autor aufweisen sollen, haben wir niemals beobachtet. Die tänzelnden, hüpfenden Bewegungen, die die Bacillen in jungen Kulturen zeigen und von den Franzosen als Eigenbewegung angesprochen werden, sehen wir in Uebereinstimmung mit Beck und Rabinowitsch und C. Fraenkel als Molekularbewegung an; von einer Lokomotion stricto sensu haben wir nie etwas gesehen. Was die Säurefestigkeit der Bacillen anbetrifft, können wir die Angabe von Arloing und Courmont bestätigen, daß in jungen Kulturen die Stäbchen nicht säurefest sind und es erst nach längerer Zeit werden; in den Deckglaspräparaten aus jungen Kulturen lassen sich etwa zwei Drittel der Stäbchen entfärben. Beck und Rabinowitsch fanden die Kulturen konstant säurefest und C. Fraenkel gibt an, daß

nur bei zu langer Methylenblaunachfärbung ein Teil der Stäbchen das Rot abgibt (ein Verhalten, das doch nicht dem Typus der Tuberkulose entspricht). Die Virulenz der Kultur ist nach Arloing und Courmont abgeschwächt, doch ruft nach ihrer Angabe intraperitoneale Injektion von 1 cm „schöne Tuberkeleruptionen am Netz“ hervor. Beck und Rabinowitsch fanden nach Injektion von ziemlich reichlichen Mengen Kultur einige wenige, stecknadelkopfgroße Knötchen im Netz, sonst keine generalisierte Tuberkulose; nach C. Fraenkel gehen manche Tiere auf Injektion von größeren Mengen Kultur nach einigen Tagen oder nach längerer Zeit offenbar an Intoxikation zu Grunde, ohne anatomische Läsionen aufzuweisen, nur bei 3 Tieren fanden sich anatomische Zeichen von Tuberkulose. Wir injizierten einem Meerschweinchen intraperitoneal 3 ccm; nach ca. 2 Monaten ging es unter Abmagerung ein und bei der Sektion fanden wir ein verklumptes, tuberkulös entartetes Netz, während andere Organe sich als frei von Tuberkulose erwiesen.

Zur Besprechung der Technik unserer Untersuchungen übergehend, müssen wir vor allem in Uebereinstimmung mit Arloing und Courmont darauf hinweisen, daß das Alter der zur Reaktion angewandten Kultur von großem Einfluß ist auf den Ausfall der Reaktion; junge, bacillenarme Kulturen sind leicht agglutinabel, während alte, dicht ausgewachsene sich nur schwer agglutinieren lassen und die Reaktion erst nach längerer Zeit deutlich zeigen. Verdünnt man aber solche zu dichte Kulturen mit Bouillon, so verhalten sie sich wie normale. Es scheint also entweder die zu große Menge der Bacillen oder die Konzentration des Kulturmediums der Agglutination ein Hindernis entgegenzusetzen. Doch auch Kulturen, bei denen dies Moment ausgeschlossen ist, also im Alter von ca. 7—12 Tagen, lassen, ohne daß wir dafür einen Grund angeben könnten, sehr große Unterschiede in ihrer Agglutinabilität erkennen, ein Punkt, auf den wir noch weiter unten zurückkommen wollen. Wir untersuchten gewöhnlich mikroskopisch im hängenden Tropfen, eine Methode, die durch Handlichkeit und geringe Menge des Serums, die zu ihrer Ausführung nötig ist, vor der makroskopischen den Vorzug verdient und, wie wir uns in einer Reihe von Parallelversuchen überzeugen konnten, mit jener ganz übereinstimmende Resultate gibt. Wie wir aus der neuesten Arbeit von Buard entnehmen, hat auch er und Rothamel diese Methode angewandt. Das Bild, welches man bei Untersuchung eines agglutinierenden Serums bekommt, ist nun wechselnd; wenn das Serum stark agglutiniert, entspricht das Bild vollkommen demjenigen einer positiven Widal-Reaktion, dichte Haufen zusammengeballter Bacillen, dazwischen völlig freies Gesichtsfeld; makroskopisch sieht man dann die Bouillon völlig klar und einen dichten Bodensatz; für diese Fälle paßt die Bezeichnung „Agglutination“ vollkommen. Bei schwächerer Agglutinationswirkung sieht man im mikroskopischen Bilde zwischen den Häufchen eine geringere oder größere Anzahl von freien, unbeweglichen Stäbchen, bei der makroskopischen Reaktion ist die Bouillon geklärt, doch noch etwas trüb, der Bodensatz nicht so deutlich abgegrenzt; für diese Fälle paßt wohl die von Arloing eingeführte Bezeichnung „Clarifikation“, doch sehen wir keinen Grund, sie auf die ganze Reaktion auszudehnen und auf diese Weise unnötig den Begriff der Agglutination zu zersplittern, wie Beck und Rabinowitsch dies tun. In gewöhnlicher Weise wurden die Verdünnungen $^1/_5$, $^1/_{10}$, $^1/_{15}$,

$^1/_{20}$ und eventuell auch weitere gemacht und die Präparate, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, nach 2 Stunden und sodann nach 18—24 Stunden angeschaut. In Fällen von starker Agglutination tritt dieselbe nach einigen Minuten ein, sonst ist sie erst nach 1—2 Stunden deutlich, aber nach 18—24 Stunden sieht man noch eine Zunahme der Agglutination, gegenüber dem Bilde nach 2 Stunden. In Uebereinstimmung mit Arloing wurden nur Werte von $^1/_5$ und darüber als positiv angegeben; es ist zwar, wie wir später sehen werden, auch diese Grenze als willkürlich zu betrachten, doch wollten wir uns genau an die von den Entdeckern aufgestellten Anforderungen halten. Absolut unzulässig scheint es uns aber, Reaktionen bei $^1/_1$ als positiv anzusprechen und zu verwerten, wie dies Buard (18) tut; bei der Untersuchung von so wahllos herausgegriffenen Fällen haben wir uns überzeugt, daß bei allen positive Reaktionen bei $^1/_1$ eintraten. Wenn nun Buard darauf besteht, daß bei Tuberkulose diese Reaktion bei $^1/_1$ schneller eintritt, als bei anderen Fällen, so müssen wir dem entgegenhalten, daß in allen unseren Fällen die Reaktion in höchstens 2 Minuten vollkommen war und daß Unterscheidungen der Schnelligkeit des Eintritts der Reaktion innerhalb dieser Zeitdauer zu sehr der subjektiven Beurteilung anheimgestellt werden müßte, schon gar nicht zu reden von den Verschiedenheiten der Agglutinabilität der einzelnen Kulturen, die wir oben berührt haben.

Um die Zuverlässigkeit der neuen Serodiagnostik einwandsfrei aufstellen zu können, müßte man über ein Material verfügen, bei dem man in jedem Fall die Richtigkeit der durch die Agglutination gelieferten Diagnose objektiv kontrollieren könnte. Bei Mangel dieser Kontrolle verliert jede, dem Anschein nach noch so glänzende Statistik ihren festen Grund. Wenn Arloing und Courmont bei 106 klinisch Tuberkulösen 94 Proz. positiver Resultate haben, wissen wir nicht, ob auch wirklich in jedem Falle Tuberkulose vorhanden war, während die negativen Resultate gerade Fälle von vorgeschrittener Phthise betreffen. Wenn sie sodann auf 43 Proz. positiver Resultate bei klinisch Nichttuberkulösen und 30 Proz. bei anscheinend Gesunden behaupten, daß diese Ziffern der Ausdruck der Häufigkeit der latenten Tuberkulose sind und sie mit den Resultaten von Beck in Parallele bringen, so ist das eine Art von Petitio principii, da sie dabei die Beweisfähigkeit der Serodiagnostik als gegeben annehmen, die doch erst demonstriert werden müßte. Die Anzahl der Fälle, bei denen bis jetzt diese objektive Kontrolle durch Autopsie, Tuberkulinreaktion oder Bacillennachweis vorlag, war ziemlich gering. Ueber 20 Autopsieen, bei denen die Seroreaktion kontrolliert werden konnte, drücken sich Arloing und Courmont etwas undeutlich aus; bei 9 Fällen latenter Tuberkulose hatten sie positives Resultat, doch gab es auch einige Fälle, wo bei positiver Reaktion keine Tuberkulose gefunden wurde, was die Autoren dahin erklären wollen, daß entweder Drüsenaffektionen übersehen wurden, oder daß die Individuen ein hohes normales Agglutinationsvermögen besaßen, oder daß eine andere Krankheit es hervorgerufen hatte — Hypothesen, die sich natürlich der Diskussion entziehen. Ebenso spärlich sind die kontrollierten Fälle bei anderen Autoren; nur Beck und Rabinowitsch haben 22 Fälle mit Bacillennachweis, 12 zum Teil mit jenen zusammenfallende Tuberkulinreaktionen, 3 Obduktionsbefunde. Es schien also angezeigt, ein Material zu wählen, wo der objektive Befund zu

liefern wäre, und, was auch wichtig erscheint, in dem Tuberkulöse wie Nichttuberkulöse gleiche Berücksichtigung fänden. Als solches wählten wir das Sektionsmaterial, bei dem die Ungenauigkeit der Diagnose, wenn überhaupt vorhanden, sich auf ein Minimum reduziert und beide erwähnten Klassen in entsprechendem Verhältnis vertreten sind. Wir untersuchten ein Material von 81 Sektionsfällen, indem wir das Blut aseptisch aus der V. femoralis entnahmen und das spontan ausgeschiedene Serum zur Reaktion verwendeten. Durch die später zu erörternde Uebereinstimmung der Prozentsätze der positiven Resultate bei klinischen wie bei den Sektionsfällen ist der eventuelle Einwurf widerlegt, daß etwa die Agglutinationskraft des Serums postmortal eine nennenswerte Veränderung erleide, die das Ergebnis irgendwie beeinflussen würde. Als Pendant zu diesen 81 Fällen und zum Teil auch als Kontrolle wurden 69 klinische Fälle untersucht (darunter auch gesunde Individuen); die erhaltenen Ziffern liefern auch einen wertvollen Beitrag zur Beurteilung der Frage. In folgender Tabelle sind die Ergebnisse beider Untersuchungsreihen zusammengestellt (siehe folgende Seite).

In 2 Fällen von vorgeschrittener Phthise mit negativer Reaktion haben wir das Serum auf antiagglutinative Wirkung untersucht, der Erfolg war jedoch negativ, so daß wir die analoge Beobachtung von Bendix vorderhand nicht bestätigen können.

Sehr interessant war ein Fall von Cholelithiasis mit Verschluß der Gallenwege und schwerem Ikterus (II. Gr. No. 41), bei dem sich ein Agglutinationsvermögen von $^1/_{500}$ fand; von der Möglichkeit ausgehend, daß das Serum den Gallenbestandteilen vielleicht das hohe Agglutinationsvermögen verdankt, und da wir tatsächlich in einem anderen Fall von Ikterus eine positive Reaktion bei $^1/_{50}$ beobachtet hatten, prüften wir die Wirkung entsprechend verdünnter Galle von einigen menschlichen Leichen auf die homogene Kultur — das Resultat war vollkommen negativ. Damit stimmt es auch überein, daß in einem seither untersuchten Falle von Icterus catarrhalis die Reaktion negativ ausfiel. Die in dieser Richtung ausgeführten systematischen Untersuchungen, die Dr. Konigstein im Institute ausgeführt hatte, stimmen mit dieser Angabe gut überein und widersprechen gleichzeitig den Untersuchungen Köhlers.

Stellen wir nun, ohne uns bei der speziellen Aufrechnung der Fälle von Tuberkulösen mit negativer Reaktion, sowie von Nichttuberkulösen mit positiver aufzuhalten, die Resultate der Untersuchungen in Ziffern eventuell in Prozentzahlen auf, die wohl die beredteste Antwort auf unsere Fragen geben werden. Wir haben also:

| | | positiv | negativ |
|---|---|---|---|
| I. Gr. 69 klin. Fälle | 17 Tuberk. | 15 = 88,0 Proz. | 2 = 12,0 Proz. |
| | 52 Nichttuberk. | 39 = 75,0 „ | 13 = 25,0 „ |
| II. Gr. 81 Sektionsf. | 28 Tuberk. | 20 = 71,5 Proz. | 8 = 28,5 Proz. |
| | 53 Nichttuberk. | 37 = 70,0,0 „ | 16 = 30,0 „ |

Betrachten wir das Ergebnis näher: In der zweiten der maßgebenden Gruppe finden wir eine frappante Uebereinstimmung der Zahl der positiven und negativen Resultate (70—71,5 Proz. und 30—28,5 Proz), die in der ersten Gruppe vorkommende Differenz von 13 Proz. zwischen der Zahl der positiven Reaktionen bei Tuberkulösen und Nichttuberkulösen ist geringfügig und absolut zu klein, als daß man darauf eine

I. Gr. Klinische Fälle.

| No. | Diagnose | Reaktion pos. | Reaktion neg. | No. | Diagnose | Reaktion pos. | Reaktion neg. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A. Tuberkulöse | | | | | | |
| 1 | Tuberc. pulm. incip. | $^1/_{25}$ | — | 35 | Lupus vulgaris | — | 0 |
| 2 | " " " | $^1/_{25}$ | — | 36 | " " | $^1/_{10}$ | — |
| 3 | " " " | $^1/_{20}$ | — | 37 | " " | $^1/_{20}$ | — |
| 4 | Tuberc. pulm. progr. | $^1/_{15}$ | — | 38 | " " | — | 0 |
| 5 | Tuberc. pulm. incip. | $^1/_{15}$ | — | 39 | " " | $^1/_{25}$ | — |
| 6 | Tuberc. pulm. progr. | $^1/_{5}$ | — | 40 | " " | $^1/_{20}$ | — |
| 7 | " " " | — | 0 | 41 | " " | — | 0 |
| 8 | " " " | $^1/_{5}$ | — | 42 | " " | $^1/_{5}$ | — |
| 9 | Tuberc. peritonei | $^1/_{5}$ | — | 43 | " " | $^1/_{20}$ | — |
| 10 | Tuberc. pulm. progr. | — | 0 | 44 | " " | $^1/_{10}$ | — |
| 11 | Tuberc. gland. lymph. | $^1/_{15}$ | — | 45 | Lupus erythematodes | $^1/_{15}$ | — |
| 12 | Tuberc. pulm. incip. | $^1/_{5}$ | — | 46 | " " | — | 0 |
| 13 | Tuberc. pulm. progr. | $^1/_{15}$ | — | 47 | Lepra maculosa | $^1/_{5}$ | — |
| 14 | " " " | $^1/_{5}$ | — | 48 | Hysteria | $^1/_{15}$ | — |
| 15 | " " " | $^1/_{10}$ | — | 49 | Tumor in reg. ileocoec. Ang. pectoris | $^1/_{5}$ | — |
| 16 | " " " | $^1/_{25}$ | — | 50 | Carc. recti | — | 0 |
| 17 | " " " | $^1/_{25}$ | — | 51 | Tumor cerebri | — | 0 |
| | B. Nichttuberkulöse. | | | 52 | Pyelitis | $^1/_{20}$ | — |
| | | | | 53 | Stenosis pylori ben. | $^1/_{40}$ | — |
| 18 | Gesunde: Dr. B. | $^1/_{10}$ | — | 54 | Myocarditis | $^1/_{10}$ | — |
| 19 | " Dr. K. | $^1/_{5}$ | — | 55 | Myasthenia cordis | $^1/_{25}$ | — |
| 20 | " Dr. E. | $^1/_{40}$ | — | 56 | Carc. recti c. metastas. | $^1/_{10}$ | — |
| 21 | " Dr. G. | $^1/_{10}$ | — | 57 | Aneurysma aortae | — | 0 |
| 22 | Bronchitis acuta | — | 0 | 58 | Exsud. pleurit. | — | 0 |
| 23 | Lupus vulgaris | $^1/_{10}$ | — | 59 | Cirrhosis hep. hypertroph. | — | 0 |
| 24 | " " | $^1/_{20}$ | — | 60 | Diabetes mellitus | $^1/_{5}$ | — |
| 25 | " " | $^1/_{30}$ | — | 61 | Sclerosis dissemin. | $^1/_{10}$ | — |
| 26 | " " | $^1/_{5}$ | — | 62 | Pleuritis | $^1/_{5}$ | — |
| 27 | " " | $^1/_{15}$ | — | 63 | Bronchectasiae | $^1/_{15}$ | — |
| 28 | " " | $^1/_{5}$ | — | 64 | Cirrhosis hep. atroph. | $^1/_{10}$ | — |
| 29 | " " | $^1/_{15}$ | — | 65 | Stenosis et insuff. aortae | $^1/_{10}$ | — |
| 30 | " " | — | 0 | 66 | Hepatitis | $^1/_{15}$ | — |
| 31 | " " | — | 0 | 67 | Tumor cerebelli | $^1/_{10}$ | — |
| 32 | " " | $^1/_{5}$ | — | 68 | Insuff. mitralis | $^1/_{10}$ | — |
| 33 | " " | $^1/_{5}$ | — | 69 | Carc. ventriculi | $^1/_{40}$ | — |
| 34 | " " | — | 0 | | | | |

II. Gr. Sektionsfälle.

| No. | Diagnose | Reaktion pos. | Reaktion neg. | No. | Diagnose | Reaktion pos. | Reaktion neg. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A. Tuberkulöse. | | | 40 | Encephalomalacia | 1/5 | — |
| 1 | Strictura urethrae. Peribronch. tbc. obsol. | 1/20 | — | 41 | Cholelithiasis | 1/500 | — |
| 2 | Enterostenosis exulc. tub. intest. | 1/5 | — | 42 | Haemorrhagia cerebri | 1/10 | — |
| 3 | Tbc. chron. gland. Tbc. pulm. obsol. | — | 0 | 43 | Typhus abd. | 1/50 | — |
| 4 | Tbc. periton. Tbc. pulm. Ulc. tub. int. | 1/15 | — | 44 | Anaemia pernic. Nephr. subac. | 1/10 | — |
| 5 | Mening. tub. Tbc. chr. pulm. et intest. | — | 0 | 45 | Carc. ventr. c. metast. | 1/15 | — |
| 6 | Tbc. chr. pulm. Pleur. bilat. | — | 0 | 46 | Endothelioma mammae | 1/15 | — |
| 7 | Insuff. v. mitr. Tbc. obsol. ap. utr. et gland lymph. | 1/5 | — | 47 | Peritonit. e perfor. proc. vermif. | 1/10 | — |
| 8 | Enteritis et Gastritis ac. Tbc. chr. pulm. s. | 1/5 | — | 48 | Glioma cerebri | 1/10 | — |
| 9 | Tbc. chr. pulm. | 1/5 | — | 49 | Endometritis pur. Septicaemia | 1/30 | — |
| 10 | Pneum. indur. Pleur. tbc. Tub. chr. pulm. | 1/25 | — | 50 | Carc. cystitis felleae | 1/10 | — |
| 11 | Tbc. miliaris univ. ac. et subac. | 1/25 | — | 51 | Haemorrh. cerebri | 1/15 | — |
| 12 | Marasmus. Tbc. obsol. pulm. et intest. | — | 0 | 52 | Anaemia pernic. | 1/25 | — |
| 13 | Tbc. pulm. et intest. Pleur. Peric. obs. | 1/5 | — | 53 | Carc. uteri | 1/20 | — |
| 14 | Cholecystitis pur. Tbc. chr. perit. et gl. lymph. | 1/15 | — | 54 | Carc. ovarii | — | 0 |
| 15 | Men. tbc. Tbc. chr. pulm. | 1/25 | — | 55 | Glioma cerebri | 1/10 | — |
| 16 | Insuff. mitr. Tbc. chr. pulm. et gland. lymph. | — | 0 | 56 | Septicaemia | — | 0 |
| 17 | Bronch. pur. Tbc. chr. pulm. et int. | 1/5 | — | 57 | Carc. uteri exulc. | 1/5 | — |
| 18 | Pleuropn. Tbc. pulm. gland. et perit. | 1/5 | — | 58 | Vulnus clopet. squam. oss. petr. | 1/5 | — |
| 19 | Tub. miliaris subac. | 1/5 | — | 59 | Pneum. lobul. Tetanus peractus | 1/5 | — |
| 20 | Periton. tub. Tbc. pulm. et intest. | — | 0 | 60 | Encephalomalacia | 1/5 | — |
| 21 | Tub. pulm. chr. et acuta | 1/10 | — | 61 | Typhus abd. | — | 0 |
| 22 | Tub. pulm. chr. | 1/15 | — | 62 | Myocarditis. Infarctus pulm. | — | 0 |
| 23 | Spondylitis tub. Tub. pulm. obsol. | 1/20 | — | 63 | Nephritis acuta haemorrh. | 1/10 | — |
| 24 | Tub. pulm. chr. | 1/5 | — | 64 | Insuff. mitr. Myocarditis | — | 0 |
| 25 | Men. tbc. Tub. pulm. et gl. bronch. | 1/10 | — | 65 | Myodegener. cordis. Marasmus | — | 0 |
| 26 | Typhus abd. Tub. chr. pulm. et pleur. | — | 0 | 66 | Abscess. subphren. chr. Pleur. | 1/5 | — |
| 27 | Tub. pulm. pleur. intest. Concretio cordis. | — | 0 | 67 | Typhus abd. | 1/5 | — |
| 28 | Tub. pulm. chr. et subac. Tub. pleur. et periton. | — | 0 | 68 | Peritonitis ex perfor. | 1/10 | — |
| | B. Nichttuberkulöse. | | | 69 | Atroph. hep. prob. Intox. phosph. | 1/15 | — |
| 29 | Typhus abd. | 1/10 | — | 70 | Dysenteria acuta. Nephritis | — | 0 |
| 30 | Carc. ventriculi | 1/20 | — | 71 | Abscessus pelveos ichor. | — | 0 |
| 31 | Pneum. indur. | 1/20 | — | 72 | Pyopneumothorax | 1/20 | — |
| 32 | Hypertrophia cordis. Hydrops. | — | 0 | 73 | Insuff. mitr. Myocarditis | 1/10 | — |
| 33 | Peritonitis ichorosa. Cholelith. | 1/10 | — | 74 | " " " | — | 0 |
| 34 | Carc. ventr. Dysenteria acuta | — | 0 | 75 | Carc. recti | — | 0 |
| 35 | Nephritis chr. Pleuropneum. croup. | 1/10 | — | 76 | Typhus abd. | — | 0 |
| 36 | Carc. ventr. | — | 0 | 77 | " " | 1/5 | — |
| 37 | Endarter. chron. aortae | 1/5 | — | 78 | Absc. gangr. pulm. et Bronch. putr. | 1/10 | — |
| 38 | Bronch. foetida. Bronchopneum. | 1/10 | — | 79 | Haemorrh. cerebri | 1/10 | — |
| 39 | Lymphoma mal. colli. Myodeg. cordis. | — | 0 | 80 | Carc. flex. sigmoideae | — | 0 |
| | | | | 81 | Carc. oesophagi | 1/5 | — |

Serodiagnostik basieren könnte. Diese Zahlen sprechen klar gegen die Spezifizität der Seroreaktion. Nun könnte man aber glauben, daß die von Arloing und Courmont aufgestellte Forderung eines Minimalwertes von $^1/_5$ zu niedrig gegriffen sei und daß vielleicht erst bei $^1/_{10}$ oder $^1/_{15}$ die spezifischen Werte anfangen. Eine einfache Berechnung zeigt, daß auch bei dieser Annahme die Reaktion keine Spezifizität erlangt; wenn wir nur die Werte von $^1/_{40}$ und darüber als positiv betrachten, die von $^1/_5$ zu den negativen rechnen, bekommen wir:

| | | Reaktion positiv | Reaktion negativ |
|---|---|---|---|
| I. Gr. 69 klin. Fälle | 17 Tuberk. | 11 = 65 Proz. | 6 = 35 Proz. |
| | 52 Nichttuberk. | 27 = 52 „ | 25 = 48 „ |
| II. Gr. 81 Sektionsf. | 28 Tuberk. | 11 = 39 Proz. | 17 = 61 Proz. |
| | 53 Nichttuberk. | 27 = 51 „ | 26 = 29 „ |

Die daraus resultierende Differenz der Prozentsätze der positiven Reaktionen zwischen Tuberkulösen und Nichttuberkulöscn und zwar 13, eventuell 12 Proz. spricht bei den klinischen Fällen zu Gunsten der Tuberkulösen, bei den Sektionsfällen umgekehrt zu Gunsten der Nichttuberkulösen, ist also wieder mit der Annahme einer Spezifität der Reaktion unvereinbar. Aehnliche Schlüsse ergeben sich bei Fixierung des Grenzwertes auf $^1/_{15}$, so daß also auch in dieser Richtung keine Grundlage für die Serodiagnostik zu suchen ist. Noch weitere Schlüsse ergeben sich, wenn wir die Fälle jeder Gruppe ohne Rücksicht auf die Diagnose summieren und die Prozentzahl der positiven Resultate dabei berücksichtigen. Wir erhalten dann

| | Reaktion positiv | Reaktion negativ |
|---|---|---|
| I. Gr. 69 klin. Fälle | 54 = 78 Proz. | 15 = 22 Proz. |
| II. „ 81 Sektionsfälle | 57 = 70 „ | 24 = 30 „ |

Die zwischen beiden Gruppen sich ergebende Differenz der Prozentzahlen der positiven Resultate, die 8 Proz. beträgt, zeigt uns, daß eine nennenswerte Veränderung des Agglutinationsvermögens postmortal nicht stattfindet, da diese Differenz wohl zu klein ist, um die Annahme einer Abschwächung zu rechtfertigen. Eins wollen wir noch hervorheben: Wenn wir die Gesamtzahl der positiven und negativen Resultate berücksichtigen, bekommen wir:

150 Fälle: positiv 111 = 74 Proz., negativ 39 = 26 Proz.

Zahlen, die eine große Uebereinstimmung zeigen mit denen von Arloing und Courmont:

186 Fälle: positiv 128 = 69 Proz., negativ 58 = 31 Proz.

Diese Uebereinstimmung spricht wohl klar dafür, daß unsere Technik einwandsfrei war, nur daß uns objektive Beurteilung der Tatsachen zu einer anderen Deutung der Resultate zwingen. Und wenn wir sogar annehmen, daß trotz der sorgfältigen Untersuchung in einem oder dem anderen Fall eine tuberkulöse Narbe oder Drüse verborgen blieb, kann dadurch wohl die Uebereinstimmung der positiven Resultate bei Tuberkulösen und Nichttuberkulösen geringer werden, aber die Spezifizität der Reaktion ist und bleibt unhaltbar.

Wir müssen uns nun fragen, wie die so sehr auseinandergehenden Resultate verschiedener Untersucher zu erklären sind. Während wir

z. B. im allgemeinen 74 Proz. positiver Resultate zu verzeichnen haben, Arloing und Courmont 69, Bendix 81, Buard 100 Proz., finden wir bei Beck und Rabinowitsch 31 Proz., bei Fraenkel 27 Proz. Wir glauben, diese Tatsache dadurch erklären zu müssen, daß, wie wir schon erwähnt haben, das Alter der Kultur einen großen Einfluß übt auf ihre Agglutinabilität, und daß auch gleichalterige Kulturen in dieser Hinsicht stark differieren können. So hatten wir bei unseren Untersuchungen Gruppen von Fällen, die in ihrem Prozentsatz positiver Resultate ziemlich stark differieren, weil zu jeder Gruppe eine neue Kultur benutzt worden war.

Weiter ist zu bemerken, daß manche Autoren schon Reaktionen von $^1/_3$ oder gar $^1/_1$ als positiv betrachten, was natürlich die Zahl der positiven Resultate sehr steigert; so erklärt sich z. B. bei Buard die enorme Zahl von 100 Proz. positiver Reaktionen bei tuberkulösen Kindern: wenn wir davon die Resultate bei $^1/_1$ abziehen, bleiben 80 Proz., eine Zahl, die sich der unserigen, sowie der von Arloing und Courmont wesentlich nähert. Auch wäre unserer Ansicht nach bei Beurteilung der Ergebnisse ein bisher unberücksichtigter Faktor mit in Rechnung zu ziehen, der leicht ein Ueberwiegen positiver Befunde bei Tuberkulösen vortäuschen könnte. Arloing und Courmont fanden nämlich, daß durch Behandlung mit Eukalyptol, Guaiakol, Kreosot und Liquor Mialhe das Serum einer normalen Ziege eine ziemlich hohe Agglutinationskraft erlangt (bis $^1/_{70}$, 7.). Nun ist aber eine große Zahl von Tuberkulösen, deren Sera wir untersuchten, mit diesen Mitteln behandelt worden, wodurch vielleicht manches sonst inaktive Serum Agglutinationswirkung erwarb. Es ist ziemlich wahrscheinlich, daß dieser Faktor zum Teil für so hohe Ziffern von positiven Resultaten, wie z. B. 97 Proz. unter Tuberkulösen (Arloing und Courmont) verantwortlich zu machen ist. Endlich ist noch zu bemerken, daß manche Angaben mit großer Vorsicht zu beurteilen sind, da sie sich auf zu kleine Beobachtungsreihen stützen, wie z. B. die von Mongour und Buard, oder ungenügende Kontrolluntersuchungen an Nichttuberkulösen aufweisen, wie z. die von Bendix, der nur 6 Nichttuberkulöse untersuchte.

Nach alledem ist es wahrscheinlich, daß die Agglutination der homogenen Tuberkulosekultur für den Tuberkuloseprozeß nicht spezifisch ist und somit auch nicht zur Diagnose verwertet werden kann. Es ist möglich, daß diese Agglutinationsfähigkeit dem normalen menschlichen Serum in einer gewissen Anzahl von Fällen zukommt (30—80 Proz.), ein Verhalten, das wir auch bei anderen Bakterienarten schon kennen. So werden manche Coli-Stämme von gewissen menschlichen Normalseris in beträchtlicher Weise agglutiniert, so agglutiniert normales menschliches Serum nach Lamborte und Maréchal (28) den modifizierten Milzbrandbacillus (Vaccin prémier) in der Höhe von $^1/_{50}$—$^1/_{500}$, nach Kraus und Löw (27) B. coli, Staphylococcus bis $^1/_{100}$, so fanden endlich Bourges und Méry, daß normales Pferdeserum den Rotzbacillus bis zur Höhe von $^1/_{200}$ agglutiniert. Auch bei der homologen Tuberkulosekultur fehlt es nicht an Analogieen, da sie von normalem Frosch-, Karpfen-, Hunde-, Pferde- und Hammelserum agglutiniert wird, wodurch diese Anschauung an Wahrscheinlichkeit gewinnt.

Gegen die Spezifizität der Reaktion spricht weiterhin eine genauere Analyse der vorliegenden Tierversuche. Arloing und Courmont

fanden, daß normales Meerschweinchenserum nicht agglutiniert, daß das Serum von 14 Tieren, welche mit dem abgeschwächten Tuberkulosestamm N, der als Ausgangspunkt für die homogene Kultur gedient hat, geimpft waren, ausnahmslos positiv reagierte, während von 12 Tieren, die mit dem vollvirulenten Stamm M geimpft wurden, nur 2 positive Reaktion gaben, von 14 Tieren, die mit kräftigen Produkten menschlicher Tuberkulose inokuliert waren, nur 5.

Wenn sie nun diese Befunde, sowie ganz analoge, bei Kaninchen und Hunden dahin deuten wollen, daß, je schwächer die Infektion, desto höher die Agglutinationskraft, so ist dem eine viel wahrscheinlichere Erklärung entgegenzuhalten, daß es die Impfung mit dem homogenen Stamm war, die die Agglutination hervorgerufen hatte, während der Mechanismus bei der heterologen vollvirulenten Kultur in der Mehrzahl der Fälle versagte. In ähnlichem Sinne sprechen die Versuche von Beck und Rabinowitsch: unter 3 normalen Meerschweinchen agglutinierte 1, unter 8 mit typischer Tuberkulose geimpften 3, unter 2 mit der homogenen Kultur geimpften 1, unter 8 normalen wie tuberkulösen Kaninchen reagierte nur 1, das mit der homogenen Kultur geimpft war. Endlich läßt sich auch mit einer Spezifizität der Reaktion die oben besprochene Beobachtung schwer in Einklang bringen, daß durch Injektion von Eukalyptol, Guaiakol, Kreosot das Serum Agglutinationsfähigkeit erlangt. Trotzdem wir aber die Spezifizität der Reaktion nicht zugeben können, wollen wir betonen, daß die manchen menschlichen Seris möglicherweise schon im normalen Zustande zukommende Agglutinationsfähigkeit gegenüber der homogenen Tuberkulosekultur, sowie der Mechanismus ihrer Entstehung eine interessante und weitere Studien erheischende Erscheinung ist.

Eine Bemerkung wollen wir hier noch anreihen, die bei der Beurteilung jeder ätiologischen Differentialdiagnostik der Tuberkulose (auch der Tuberkulinreaktion) zu berücksichtigen wäre. Angenommen den Fall, daß die Serodiagnostik, wie ihre Entdecker wollen, spezifisch wäre, müßte man noch bei der Verwertung ihrer Befunde sich große Zurückhaltung auferlegen, wenn, wie Arloing und Courmont behaupten, auch Fälle von ausgeheilter Tuberkulose positive Reaktionen gäben. Es könnte dann z. B. bei einer verdächtigen fieberhaften Erkrankung eine alte Spitzennarbe oder eine verborgene minimale Drüsenaffektion positive Reaktion hervorrufen und die Diagnose in die Bahn der Miliartuberkulose lenken, während wir es mit Septikämie oder Abdominaltyphus in Wirklichkeit zu tun hätten. Also auch der Umstand, daß minimale oder abgelaufene Prozesse Reaktionen geben, d. h. die zu große Empfindlichkeit der Reaktion würde, wenn sie spezifisch wäre, ihre Anwendung für die differentialdiagnostische Praxis erschweren, ohne freilich ihren theoretischen Wert zu vermindern.

Wir erfüllen eine angenehme Pflicht, indem wir auch an dieser Stelle Herrn Prof. R. Paltauf, sowie Herrn Dr. R. Kraus für die Ueberlassung des Materials, sowie für das rege Interesse, das sie unserer Arbeit entgegenbrachten, unseren innigsten Dank aussprechen. Auch Herrn Hofrat Prof. Neusser, Hofrat Prof. Kaposi, Prof. Lang und Hofrat Prof. Neumann sind wir für die gefällige Ueberlassung des klinischen Materials zu großem Dank verpflichtet.

Wien, im Herbst 1900.

## Nachtrag.

Vorliegende Arbeit, die in gegenwärtiger Form vor 2 Jahren ausgeführt war, hätte ursprünglich durch weitere Untersuchungen auf Grund der Kochschen Methode ergänzt werden sollen. Da jedoch diese Untersuchungsreihe, die im Institute fortgesetzt wird, zur Zeit noch nicht abgeschlossen ist, werden vorläufig obige Ergebnisse publiziert, die schon im Herbst 1900 von Herrn Doz. Dr. R. Kraus in einem Vortrag („Die Fortschritte der Bakteriologie in der Diagnostik der Infektionskrankheiten". Wiener med. Wochenschr. 1901. No. 20—22) in kurzen Worten erwähnt wurden. Indem wir jetzt diese Ergebnisse publizieren, möchten wir in aller Kürze einige neuere Arbeiten auf diesem Gebiete berücksichtigen, eventuell auf Grund unserer Arbeit zu ihnen Stellung nehmen.

Die Mehrzahl der neueren Arbeiten (soweit sie uns zugänglich waren) verhält sich gegenüber der Methode von Arloing und Courmont skeptisch oder verwirft sie direkt als unsicher und nicht spezifisch. Ich nenne hier nur die Arbeiten von Horcicka, Knopf, Dieudonné, Lubowski, Neisser (beide letzteren aus dem Ehrlichschen Institut), Iwanow, Moeller, Ruitinga. Nur G. Carrière hält die Reaktion für sehr empfindlich, wenn auch schwer ausführbar und befürwortet ihre Verwendung zumal gemeinsam mit den sonstigen diagnostischen Behelfen. Wenn wir aber die in seiner Publikation enthaltenen Daten einer näheren Prüfung unterziehen, finden wir, daß diese Daten absolut nicht geeignet sind, die daraus gezogenen Schlüsse zu rechtfertigen. Wir finden nämlich 70 Fälle von Lungentuberkulose mit 47 positiven Reaktionen, 10 Miliartuberkulosen mit 2, 8 Fälle galoppierende Schwindsucht mit 2, d. h. insgesamt 88 Fälle von Tuberkulose mit 51 positiven Reaktionen, d. i. 58 Proz., dagegen 40 klinisch nichttuberkulöse Fälle und 22 positive Reaktionen, d. i. 55 Proz. Selbst wenn man nach Carrière annimmt, daß unter den letzteren ein Teil unter die latenten Tuberkulosen zu rechnen wäre, kann man doch unmöglich, auf diese Ziffern gestützt, die Spezifizität der Reaktion proklamieren.

Besondere Beachtung verdienen weiter unseres Erachtens die zahlreichen Tierexperimente neueren Datums, die geeignet sind, auf die Frage der Spezifizität gewisses Licht zu werfen. De Grazia findet bei normalen Kaninchen, Meerschweinchen, Lämmern und Pferden ein hohes Agglutinationsvermögen. Koch konstatiert unter 30 normalen Kaninchen 4mal eine Reaktion von $^1/_{10}$, 2mal von $^1/_{25}$, unter 10 normalen Pferden 8mal bei $^1/_{25}$, 2mal bei $^1/_{50}$. Diese letztere Tatsache erscheint speziell interessant, wenn man die außerordentliche Seltenheit der Tuberkulose bei Pferden bedenkt ($^1/_{1000}$—$^1/_{10\,000}$ nach Nocard und Leclainche); sie läßt es auch geboten erscheinen, bei der Annahme der Spezifizität der Reaktion die größte Vorsicht walten zu lassen. Das ungemein wichtige Problem der Anwendung der Serodiagnostik bei der Tuberkulose der Rinder ist bis jetzt noch immer nicht gelöst. Während Arloing und Courmont behaupten, daß die Methode unter 120 Fällen, die durch die Sektion kontrolliert wurden, nur 1mal versagt habe, sprechen ihr Beck und Rabinowitsch auf Grund von 78 ebenso

kontrollierten Fällen jede diagnostische Bedeutung ab, nachdem sie bei tuberkulösen wie bei nichttuberkulösen Rindern gleiche Prozentsätze positiver Reaktionen zu verzeichnen hatten.

In letzter Zeit wurden endlich einige Tatsachen gefunden, die für die Beurteilung der Spezifizität der Reaktion von großer Tragweite sein dürften. Koch fand (Moeller und Kayserling und Rumpf und Guinard bestätigen die Angabe), daß man, durch Injektion der Leibesbestandteile der Tuberkelbacillen (T. R. von Koch) sowohl bei gesunden Tieren als auch bei tuberkulösen Menschen das Auftreten hoher, spezifischer Agglutinationswerte erzielen eventuell schon bestehende beträchtlich steigern kann. Andererseits hat Romberg an 33 und Ruitinga an 5 Neugeborenen festgestellt, daß ihr Serum in der Konzentration 1:1 gegenüber Tuberkulosekulturen unwirksam ist; diese Beobachtung speziell, wenn man die große Seltenheit der Tuberkulose bei Neugeborenen berücksichtigt, scheint dafür zu sprechen, daß das normale menschliche Serum keine Agglutinationskraft besitzt, und daß die bei Erwachsenen beobachtete erst im Laufe des Lebens erworben wird. Wenn wir noch dabei die von Koch bewiesene Möglichkeit einer spezifischen Tuberkuloseagglutination bedenken, erscheint es ziemlich wahrscheinlich, daß die beim Menschen beobachtete Agglutination der Ausdruck einer spezifischen Reaktion gegenüber der Tuberkuloseinfektion sein dürfte. Einen solchen Schluß zieht auch tatsächlich Romberg aus seiner Beobachtung und hält auf Grund dessen jede Agglutination, auch die bei $^1/_1$ für spezifisch und beweisend. Dazu wäre zu bemerken, daß durch Rombergs Beobachtung die Spezifizität noch immer nicht strikt bewiesen erscheint, wenn sie auch dadurch sehr an Wahrscheinlichkeit gewinnt. Wir wissen z. B., daß das Serum von Neugeborenen dem B. coli gegenüber wirkungslos ist, welches von Seris Erwachsener prompt agglutiniert wird, ohne daß wir mit voller Gewißheit behaupten können, daß diese Eigenschaft eine spezifische Erscheinung ist, hervorgerufen durch Resorption von Leibesbestandteilen des B. coli vom Darmtraktus aus. Doch nehmen wir vorläufig an, was auch sonst nicht unwahrscheinlich ist, die Reaktion wäre tatsächlich spezifisch — welche Folgerungen würden sich daraus für die Praxis ergeben? In seiner hervorragenden Arbeit hat Naegeli, gestützt auf ein Material von 500 mit beispielloser Genauigkeit untersuchten Sektionsfällen konstatiert, daß 98 Proz. unter den Erwachsenen auf dem Sektionstisch Zeichen von Tuberkulose aufweisen und zwar

unter 284 Fällen

| | | | |
|---|---|---|---|
| 6 | ohne Tuberkulose | = 2 | Proz. |
| 63 | leichte Tuberkulosen | = 22,2 | „ |
| 74 | aktive Tuberkulosen | = 26 | „ |
| 32 | zweifelhafte Tuberkulosen | = 11,3 | „ |
| 111 | inaktive Tuberkulosen | = 39,5 | „ |

Aus dem Vergleich seiner Untersuchungsergebnisse mit obigen Daten zieht nun Romberg den Schluß, daß die Agglutination auf das Bestehen einer aktiven manifesten oder latenten Tuberkulose hinweist, daß sie dagegen bei vorgeschrittener Phthise, sowie in inaktiven Fällen gewöhnlich fehlt.

Romberg findet bei klinisch Nichttuberkulösen 67,7 Proz., bei Tuberkulösen 74,3 Proz. positiver Reaktionen. Wir glauben jedoch,

daß der Schluß, den er daraus zieht, nämlich, daß eine positive Reaktion nur eine active manifeste oder latente Tuberkulose bedeute, nicht ganz exakt sein dürfte. Wenn wir nämlich in der Zusammenstellung von Naegeli die letalen Tuberkulosen (63 Fälle), sowie mindestens die Hälfte der anderen (37 Fälle) als der klinischen Tuberkulose-Diagnose zugänglich ausschließen, bleiben von 284 Fällen nur 184, die als klinisch nichttuberkulös qualifiziert werden können. Darunter haben wir nun 37 aktive latente Tuberkulosen, 32 zweifelhafte, 111 inaktive, 6 Nichttuberkulöse, d. i. 37,5 Proz. aktive und zweifelhafte und 62,5 Proz. inaktive und nichttuberkulöse. Es kann nun nicht zweifelhaft erscheinen, daß, da Romberg 62,7 Proz. positive Reaktionen bei Nichttuberkulösen erhalten hat, und darunter nur 37,5 Proz. aktive Tuberkulosen sich befanden, in der Zahl von 67,7 positiven Reaktionen eine Anzahl von inaktiven Tuberkulosen enthalten sein muß. Diese Tatsache wird noch augenfälliger, wenn wir die von uns oben angeführte Zahl von 75 Proz. positiver Reaktionen bei klinisch Nichttuberkulösen berücksichtigen. Obendrein führt Romberg, wie schon erwähnt wurde, auch Reaktionen bei $^1/_1$ als positiv an; unsere Erfahrungen, wenn auch an der kleinen Zahl von 10 Fällen und mit einer anderen Methode gewonnen, zeigten uns in allen untersuchten Fällen (100 Proz.) ein positives Resultat bei $^1/_1$, es müßten hier also auch alle inaktiven Tuberkulosen reagieren.

Wenn wir all diese Tatsachen zusammenfassen, kommen wir zu dem Schluß, daß, wie es auch Romberg hervorhebt, selbst, wenn man die Spezifizität der Reaktion rückhaltslos anerkennt, ihr jede diagnostische Verwendbarkeit abgesprochen werden muß, da sie in Fällen von aktiver Tuberkulose versagen (bei Romberg in 25 Proz., bei uns in ca. 30 Proz.), andererseits in Gegenwart minimaler tuberkulöser Herde die Diagnose auf Irrwege leiten kann, wo es sich tatsächlich um einen ganz anderen Krankheitsprozeß handelt. Es erscheint vorderhand sogar noch sehr zweifelhaft, ob, wie Romberg behauptet, die Methode zur Erkennung latenter aktiver Tuberkulose herangezogen werden darf, zumal wenn wir das oben Gesagte ins Gedächtnis führen. Die Schlußfolgerungen, mit denen wir vor 2 Jahren unsere Arbeit abgeschlossen hatten, behalten also auch jetzt noch angesichts der neueren Errungenschaften ihre Gültigkeit.

Bei der Besprechung der variierenden Agglutinabilität verschiedener Tuberkulosekulturen haben wir oben erwähnt, daß ältere und dichtere Kulturen sich schwer agglutinieren lassen; die dort ausgesprochene Vermutung, daß die größere Keimzahl der Kultur es ist, die den Wert des Serums niedriger erscheinen läßt, fand inzwischen ihre Bestätigung in den Arbeiten von Ficker, Iwanow und Romberg. Andererseits haben die Untersuchungen von Foerster, Tobiesen, Eisenberg und Volk die theoretische Grundlage dieser auch bei Typhuskulturen beobachteten Erscheinung in quantitativen Bindungsverhältnissen zwischen dem Agglutinin und der agglutinablen Substanz festgestellt. Es erscheint daher als großer Fortschritt in dieser Frage, daß von Romberg und Koch neuerdings Methoden eingeführt werden, die uns die Möglichkeit der Handhabung eines unveränderlichen Testpräparates in die Hand geben und dadurch erlauben, die von verschiedenen Forschern gewonnenen Resultate miteinander einwandsfrei zu vergleichen. Welche von diesen Methoden sich als zweckentsprechender und handlicher erweist, sollen zukünftige Untersuchungen lehren.

**Literatur.**


1) Brieger, L. und Neufeld, F., Zur Diagnose beginnender Tuberkulose aus dem Sputum. (Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 6.)
2) Beck, M., Ueber die diagnostische Bedeutung des Kochschen Tuberkulins. (Deutsche med. Wochenschr. 1899. No. 9.)
3) Levy, E. und Bruns, Hayo, Ueber die Frühdiagnose der Tuberkulose. (Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 9.)
4) Park, W. H., Bemerkuug über die Wirkung des Blutserums tuberkulöser Tiere und Menschen auf den Tuberkelbacillus. (Ref. Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. p. 675.)
5) Arloing, S., Agglutination du bacille de la tuberculose vraie. (Congr. de méd. int. Montpellier 1898. 12—17 Avril.)
6) — —, Sur l'obtention de cultures et d'émulsions homogènes du bacille de la Tuberculose humaine en milieu liquide et sur une variété mobile de ce bacille. (Compt. rend. ac. d. sc. T. CXXVI. 1898. p. 1319—1321.)
7) Arloing, S., Agglutination du bacille de la tuberculose vraie. (Ibidem. T. CXXVI. 1898. 16 Mai. p. 1398—1401.)
8) — —, Apparition dans le sérum sanguin sous l'influence, des produits chimiques d'une matière capable d'agglutiner le bacille de la tuberculose vraie. (Ibid. T. CXXVI. 1898. 31 Mai. p. 1550—1553.)
9) Courmont, P., Action des épanchements des séreuses tuberculeux ou non sur les cultures de bacilles de Koch en milieu liquides. (Compt. Rend. Soc. d. Biol. 1898. 28. Mai. p. 605—608.)
10) — —, Sérodiagnostic des épanchements tuberculeux. (Presse médicale. 1898. 11 Juin.)
11) — —, Sérodiagnostic des épanchements tuberculeux. (Congr. pour l'étude de la Tub. Paris 1898. p. 578.)
12) — —, L'agglutination du bacille de Koch par les épanchements tuberculeux. (Compt. Rend. Soc. d. Biol. 1900. 24 Nov. p. 1000—1002.)
13) — —, L'agglutination du bacille de Koch par les épanchements tuberculeux (sérodiagnostic). (Arch. de méd. expér. et d'anat. path. 1900. p. 697.)
14) Arloing, S. et Courmont, P., De l'obtention des cultures du bacille de Koch les plus propices à l'étude du phénomène de l'agglutination par le sérum sanguin des tuberculeux. (Congr. pour l'étude de la tub. Paris 1898. p. 583.)
15) Arloing, S. et Courmont, P., Étude sur la recherche et la valeur clinique de l'agglutination du bacille de Koch par le sérum sanguin de l'homme. (Ibid. p. 586.)
16) — —, De l'obtention des cultures du bacille de Koch les plus propices à l'étude du phénomène de l'agglutination par le sérum sanguin des tuberculeux. (Compt. Rend. Ac. d. Sc. T. CXXVII. 1898. 8 Août. p. 312—315.)
17 — —, Sur la recherche et la valeur clinique de l'agglutination du bacille de Koch par le sérum sanguin de l'homme. (Ibid. T. CXXVII. 1898. 19 Sept. p. 425—428.)
18) — —, Recherche et valeur clinique de l'agglutination du bacille de Koch (sérodiagnostic de la tuberculose). (Ber. üb. den Berl. Tuberkulosekongr. 1899. p. 229.)
19) — —, De l'agglutination du bacille de Koch; agglutination au séro-diagnostic de la tuberculose. (Zeitschr. f. Tub. u. Heilst. Bd. I. 1900. Heft 1—2.)
20) — —, Sur la valeur de la séro-réaction pour la diagnostic précoce de la Tuberculose. (Presse méd. 1900. No. 73.)
21) — —, Ueber den Wert der Serumreaktion für die frühzeitige Diagnose der Tuberkulose. (Deutsche med. Wochenschr. 1900. p. 766.)
22) — —, Le séro-diagnostic la tuberculose. (Gaz. des hôp. 1900. p. 1467—1474.)
23) — —, Étude de l'influence chez le chien d'une inoculation de bacilles de Koch très virulents sur le pouvoir agglutinant déterminé par une prémière inoculation de bacilles attenués. (Compt. Rend. Soc. de Biol. 1900. 1 Déc. p. 1025—1026.)
24) — —, Des causes qui modifient le développement du pouvoir agglutinant dans le sang des sujets rendus expérimentalement tuberculeux. (Journ. de Physiol. et de Path. gén. 1900. p. 82—94.)
25) Arloing, S., Du diagnostic de la tuberculose par la séro-agglutination. (Congr. internat. de Paris. 1900. Août.)
26) — —, Séro-diagnostic de la tuberculose sur les animaux de l'espèce bovine. (Journ. de méd. vétér. et de zootechnic. 1900. p. 449.)
27) Mongour et Buard, Note sur le séro-diagnostic de la tuberculose. (Compt. Rend. Soc. de Biol. 1898. p. 1142.)
28) — —, Sur l'agglutination du bacille tuberculeux. (Ibid. 1899. p. 564.)

29) Mongour et Buard, Note sur le séro-diagnostic de la Tuberculose pulmonaire. (Ibid. 1899. p. 656).
30) Buard, G., De la séro-réaction tuberculeuse; cultures du bacille agglutinable; étude spéciale chez l'enfant. Thèse inaug. Bordeaux 1899.
31) — —, Sur la séro-reaction tuberculeuse. (Journ. de Physiol. et de Path. gén. T. II. 1900. No. 5.)
32) Rothamel, De l'agglutination du bacille de la tuberculose humaine étudiée plus spécialement chez les tuberculeux cachectiques. Thèse inaug. Bordeaux 1899.
33) Courmont, G., Presse médicale. 1898. No. 49.
34) Dubard, Sur quelques propriétés nouvelles du bacille de Koch. (Compt. Rend. Soc. de Biol. 1898. p. 474.)
35) Bendix, E., Zur Serodiagnose der Tuberkulose. (Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 14.)
36) Beck, M, und Rabinowitsch, Ueber den Wert der Courmontschen Serumreaktion für die Frühdiagnose der Tuberkulose. (Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 25.)
37) Fraenkel, C., Untersuchungen über die Serumdiagnose der Tuberkulose nach dem Verfahren von S. Arloing und P. Courmont. (Hyg. Rundschau. 1900. No. 13.)
38) Edsall, D., A critical summary of the litterature on the serum-diagnose of tuberculosis. (Amer. Journ. of med. Sciences. Vol. CXX. 1900. No. 1.)
39) Kraus, R. und Löw, L., Ueber Agglutination. (Wien. klin. Wochenschr. 1899. No. 5.)
40) Lambotte et Maréchal: L'agglutination du bacille charbonneux par le sang humain normal. (Annal. de l'Inst. Past. T. XIII. 1899. No. 8.)
41) Bourges et Méry, cit. bei 40.

## Neuere Literatur seit 1900.

42) Arloing, S. und Courmont, P., Ueber den Wert der Serumreaktion für die frühzeitige Diagnose der Tuberkulose. (Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 48. p. 766.)
43) — —, De l'action du froid et des antiseptiques sur le conservation des cultures homogènes de bacilles tuberculeux destinés à l'agglutination. (Compt. Rend. Soc. de Biol. 1901. 14 déc. p. 1093–1095.)
44) Ascoli e de Gregorio, L'agglutinazione dei bacilli tubercolari. (Il Policlinico. 1902.)
45) Beck, M. und Rabinowitsch, Weitere Untersuchungen über den Wert der Arloing-Courmontschen Serumreaktion bei Tuberkulose, speziell bei Rindertuberkulose. (Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 10. p. 145.)
46) — —, Ueber den Wert und die Bedeutung der Arloing-Courmontschen Serumreaktion, besonders in Bezug auf die frühzeitige Erkennung der Rindertuberkulose. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infkr. Bd. XXXVII. 1901. p. 205—224.)
47) Bogaert, van et Klynens, Diagnostic précoce de la tuberculose pulmonaire. (Zeitschr. f. Tub. u. Heilst. Bd. I. 1900. Heft 3. p. 194—199.)
48) Buard, G., Diagnostic précoce de la tuberculose et la séro-réaction tuberculeuse. (Gaz. hebdom. de Sc. méd. de Bordeaux. 1901. 2 juin.)
49) — —, De la séroréaction comme moyen de diagnostic de la tuberculose; son application aux cas de tuberculose chirurgicale. (Ibid. 1901. 28 juillet.)
50) Carrière, G., Le sérodiagnostic de la tuberculose. (Compt. Rend. Soc. de Biol. 1901. p. 746—747.)
51) Casagrandi, Atti della Società Lancisiana. 1902. 11 Genn.
52) Clément, H., Contribution à l'étude du sérodiagnostic de la tuberkulose; son application aux cas de tuberculose chirurgicale. [Thèse de Lyon. 1900.]
53) Dieudonné, A., Zur Frühdiagnose der Tuberkulose. (Deutsche militärärztliche Zeitschr. 1900. Heft 10. p. 526—530.)
54) Eckkardt, Widalsche Serumprobe bei Weilscher Krankheit. (Münchener mediz. Wochenschr. 1902. No. 27. p. 1129–1132.)
55) Eisenberg, Ph., Ueber Isoagglutinine und Isolysine in menschlichen Seris. (Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 42.)
56) Ficker, M., Ueber die Serumreaktion bei der Tuberkulose. (Zeitschr. f. Tub. u. Heilst. Bd. II. 1901. Heft 4. p. 321—325.)
57) Grazia, F. de, La serodiagnosi nella tubercolosi polmonare. (Gazz. degli ospedali. 1901. 8. Sett.)

58) Grazia, F. de, Die Serumdiagnose bei der Lungentuberkulose. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. Heft 11, 12.)
59) Hawthorn, E., De la séro-réaction tuberculeuse et sa valeur pour la diagnostic précoce de la tuberculose. (Compt. Rend. Soc. de Biol. 1902. No. 19. p. 632—634.)
60) Horcicka, J., Beitrag zur Serumdiagnose der Lungentuberkulose nach dem Verfahren von S. Arloing und P. Courmont. (Hyg. Rundschau. Bd. X. 1900. No. 22. p. 1073—1074.)
61) Ilvento, A., Sull' agglutinabilità del bacillo tubercolare per sieri differenti e sua importanza diagnostica. (Riforma medica. Vol. IV. 1902. No. 36, 37.)
62) Iwanow, A., O sierodiagnozic tubierkuloza. (Medic. Obozr. 1901. No. 12.)
63) Klein, A., Beiträge zur Kenntnis der Agglutination roter Blutkörperchen. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 16.)
64) Knopf, A. S., Die Früherkennung der Tuberkulose. (Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilst. Bd. I. 1900. Heft 3. p. 187—194.)
65) Koch, R., Ueber die Agglutination der Tuberkelbacillen und über die Verwertung. dieser Agglutination. (Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 48. p. 829—834.)
66) Köhler, F., Das Agglutinationsphänomen. Jena (Fischer) 1901.
67) Lubowski, Ueber einen atoxischen und avirulenten Diphtheriestamm und über die Agglutination der Diphtheriebacillen. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infkr. Bd. XXXV. 1900. p. 87—104.)
68) Masius, V. et Béco, L., Recherches sur la séroreaction de la tuberculose. (Bull. de l'Acad. r. de méd. de Belg. 1902. No. 2. p. 107—141.)
69) Moeller, A., Zur Frühdiagnose der Tuberkulose. (Münchener med. Wochenschr. 1901. No. 50. p. 1999—2000.)
70) Moeller, A. und Kayserling, A., Ueber die diagnostische und therapeutische Verwendung des Tuberkulins. (Zeitschr. f. Tub. u. Heilst. Bd. III. 1902. Heft 4. p. 279—314.)
71) Neisser, Die Bedeutung der Bakteriologie für Diagnose, Prognose und Therapie. (Wien. med. Wochenschr. 1900. No. 48, 49.
72) — —, Klin. Jahrb. Bd. VIII. 1002. p. 35—38.
73) Naegeli, Ueber die Häufigkeit, Lokalisation und Ausheilung der Tuberkulose. (Virch. Arch. Bd. CLX. 1900. p. 426—472.)
74) Romberg, E., Zur Serumdiagnose der Tuberkulose. (Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 18, 19.)
75) Romberg, E., Weitere Untersuchungen zur Serumdiagnose der Tuberkulose. (Münchener med. Wochenschr. 1902. No. 3. p. 89—94.)
76) Ruitinga, P.. Over agglutinatie van tuberkelbacillen ter herkening van tuberkulose. Inaug.-Diss. de Bussy. Amsterdam 1901.
77) — —, Zur Serumdiagnose der Tuberkulose. (Zeitschr. f. Tub. u. Heilst. Bd. III. 1902. Heft 6. p. 489—498.)
78) Rumpf, E. und Guinard, L., Ueber die Agglutination der Tuberkulosebacillen und die Verwertung dieser Agglutination. (Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 8. p. 131—135.)
79) Thellung, F., Experimenteller Beitrag zur Frage der Agglutination der Tuberkelbacillen und zur Behandlung der Tuberkulose mit Neutuberkulin Koch. (Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. p. 28—48.)
80) Zupnik, L., Erfahrungen über die Gruber-Widalsche Reaktion und Antiagglutination bei Typhus abdominalis. (Zeitschr. f. Heilk. Bd. XXII. 1902. Heft 11. Abt. f. Path. etc. 1901.)
81) — —, Widalsche Serumreaktion bei Weilscher Krankheit. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 31. p. 1305.)
82) v. Gebhardt, F. und v. Torday, A., Ueber die Serumdiagnose der Tuberkulose. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 28. p. 1171—1173.)
83) Loeb, L. M., The serum diagnosis of tuberculosis. (Transact. of the Chicago Path. Soc. Vol. V. 1902. No. 7. p. 141—146.)
84) Marzagalli e Caffarena, Kongreß für innere Medizin. Rom 28.—31. Okt. 1902. (Ref. Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 2. p. 90.)
85) Caffarena, Ueber agglutinierende Eigenschaften des Pferdeserums gegenüber dem Tuberkelbacillus. (Ibid.)
86) Courmont, P. et Descos, A., Cultures liquides homogènes et mobilité des bacilles „acido-résistants“. (Compt. rend. de la soc. de Biol. 1902. 29 Nov. p. 1355—1357.)

87) Courmont, P. et Descos, A., De l'agglutinabilité des cultures homogènes des bacilles „acido-résistants". (Ibid. p. 1357—1359.)
88) Arloing, F., Existe-t-il un rapport entre l'action chimiotaxique de certains sérums se rapportants à la Tuberculose et leur pouvoir agglutinant sur le bacille de Koch. (Compt. rend. de la soc. de Biol. 1902. 13 Déc. p. 1428—1430.)

---



# Ein Vorlesungsversuch auf dem Gebiete der Dampfdesinfektion.

Von Prof. Dr. **C. Eijkman** in Utrecht.

Einer meiner Schüler, Dr. J. Schut, hat bei Gelegenheit von Untersuchungen über das Absterben von Bakterien beim Kochen unter erniedrigtem Druck unter anderem gefunden, daß gesättigter Wasserdampf auf Bakterien und Sporen schneller abtötend wirkt als kochendes Wasser von gleicher Temperatur. Daß der Unterschied ein ziemlich erheblicher ist, geht aus nachfolgenden Zahlen hervor, die sich auf Bac. pyocyaneus und auf 3 Proben von Anthraxsporen beziehen: Dieselben wurden, auf sehr dünne Mikascheibchen angetrocknet, einerseits in kochendes Wasser, andererseits in strömenden Wasserdampf gebracht.

Bac. pyocyaneus.

| Temperatur | Dampf | kochendes Wasser |
|---|---|---|
| | abgetötet nach | |
| 48° | < 5 Minuten | 10—15 Minuten |
| 45° | < 10 „ | 25—30 „ |
| 34° | 45 „ | > 7 Stunden |

Anthraxsporen.

| Temperatur | Dampf | kochendes Wasser |
|---|---|---|
| | abgetötet nach | |
| I. 87° | < 3 Minuten | 5—10 Minuten |
| II. 85° | 2 „ | 10—15 „ |
| III. 80° | 5 „ | > 1 Stunde |

Aus naheliegenden Gründen ist der Unterschied am deutlichsten ausgesprochen bei den niederen Temperaturgraden. Bei noch höheren Temperaturen, als wobei untersucht wurde, würden voraussichtlich die Zeitintervallen sogar so kurz werden, daß etwaige Differenzen nicht mehr mit Sicherheit zu eruieren wären. Daß überhaupt ein Unterschied in der Schnelligkeit der Wirkung zwischen Dampf und kochendem Wasser entdeckt wurde — und bis jetzt noch nicht entdeckt worden war — ist also wohl dem Umstande zuzuschreiben, daß die betreffenden Versuche gerade bei niederen Temperaturgraden und nicht, wie gewöhnlich, bei 100° angestellt wurden.

Wie erklärt sich nun die erwähnte Differenz? Ich glaube die Erklärung ergibt sich aus folgender Ueberlegung.

Bekanntlich wird der Kochpunkt des Wassers durch darin gelöste Stoffe (Salz, Zucker u. s. w.) erhöht, während die Temperatur des Dampfes davon nicht beeinflußt wird, sondern nur abhängig ist vom Druck, worunter das Wasser bezw. die Lösung kocht. Umgekehrt kann man eine wässerige Lösung von Salz, Zucker u. s. w. bis auf ihren Kochpunkt, bei atmosphärischem Drucke also über 100° erhitzen, wenn man Wasserdampf von z. B. 100° hindurchleitet. Die dazu nötige Kalorienmenge wird offenbar von der bei der Kondensation des Dampfes freikommenden Wärme geliefert.

Wenden wir nun diese Betrachtung an auf den Fall, daß eingetrocknetes Bakterienmaterial der Einwirkung des Wasserdampfes ausgesetzt sind. Es wird dasselbe alsdann sofort hygroskopisches Wasser aufnehmen. Dieses Wasser wird die eingetrockneten Salze u. s. w. auflösen und infolgedessen befinden sich also die Keime eingebettet in einer konzentrierten Lösung, die nun bis auf ihren Kochpunkt, also weit über die Temperatur des Dampfes, erhitzt wird.

Daß es sich wirklich so verhält, läßt sich durch einen einfachen Versuch demonstrieren.

Man steckt die Kugel eines Thermometers in ein passendes Säckchen von Mousselin oder dergleichen, das man zuvor mit ein wenig Salzpulver gefüllt hat. Das Thermometer wird nun mit dem daran befestigten Säckchen in den Hals eines Kolbens mit kochendem Wasser hineingehängt. Das Quecksilber, anstatt wie sonst nur bis auf 100° anzusteigen, geht sofort bis auf 105° und höher hinauf.

Durch diesen Versuch wird also 1) erwiesen, daß bei der Desinfektion im Dampfofen die auf die Keime einwirkende Temperatur eine höhere ist als die des Dampfes selbst; 2) die Tatsache erklärt, daß Wasserdampf die Keime schneller abtötet als kochendes Wasser von derselben Temperatur.

---



# Ueber den Desinfektionswert einiger Formaldehydpräparate.

[Aus dem hygienischen Institut in Göttingen.]

Von Stabsarzt **Keisaku Kokubo** aus Japan.

Während die Anwendung des gasförmigen Formaldehyds als Desinfektionsmittel täglich mehr an Bedeutung gewinnt, wird es in flüssigem Zustande trotz seiner hohen antiseptischen Kraft sehr wenig benutzt, woran wohl vorwiegend die unangenehmen reizenden und ätzenden Eigenschaften der Lösung die Schuld tragen. Man hat deshalb in neuerer Zeit versucht, Präparate herzustellen, welche das Formalin in solcher Modifikation enthalten, daß unter möglichster Wahrung der antiseptischen Eigenschaften die unangenehmen Nebenwirkungen vermieden werden. Das älteste dieser Präparate dürfte das Lysoform sein, dazu ist dann neuerdings das „Septoforma“ in zwei verschiedenen Auflagen hinzugetreten. Auch als Zusatz zu Seifen ist das Formalin verwandt; von

der Firma Th. Hahn in Schwedt a. O. ist eine flüssige und eine feste Formalinseife in den Handel gebracht worden. Das Lysoform ist bereits in den Arbeiten von Cramer[1]), Symanski[2]), Elsner[3]) und Seidewitz[4]) eingehend untersucht: seine Desinfektionskraft wurde nicht sehr hoch gefunden.

Auf Anregung des Herrn Professors v. Esmarch habe ich das Septoforma und die flüssige Formalinseife einer Prüfung auf ihre baktericide Kraft unterzogen. Dabei habe ich mich auch bei der Seife auf die rein bakteriologische Prüfung beschränkt, zu einer Untersuchung auf ihre praktische Brauchbarkeit zur Händedesinfektion reichte die mir für diese Arbeit zur Verfügung stehende Zeit nicht aus.

Von dem Septoforma, das von der Firma „Septoforma", G. m. b. H. in Köln, erzeugt wird, sind zwei Sorten untersucht. Die ältere, die jetzt nicht mehr hergestellt wird, war bis Mitte 1902 im Handel und ist dann durch ein neues besseres Präparat ersetzt worden. Beide Präparate stellen eine dunkelbraune, dickliche Flüssigkeit dar, die mit Wasser eine anfangs klare, beim Schütteln stark schäumende Lösung bildet, die aber nach längerem Stehen trübe wird.

Die Hahnsche Formalinseife kommt mit 10 und 25 Proz. Formalinzusatz in den Handel, es ist eine fast klare, grüngelbe Flüssigkeit mit kräftigem, aber nicht unangenehmem Parfüm, das allerdings den stechenden Formaldehydgeruch nicht ganz verdeckt. Derselbe ist aber nicht entfernt so unangenehm, wie bei einer wässerigen Formalinlösung. Die Seife mischt sich in jedem Verhältnis klar mit Wasser, die Mischung bleibt auch nach längerem Stehen klar.

Die Mikroorganismen, an denen die Desinfektionskraft geprüft werden sollte, wurden teils als Bouillonkultur, teils als wässerige Aufschwemmung, teils in trockenem Zustande an Seidenfäden benutzt. Zur Anwendung kamen Milzbrandsporen, Staphylo- und Streptokokken und Typhusbacillen. Die Milzbrandfäden hielten 3—4 Minuten strömenden Wasserdampf aus, die Staphylokokken hatten sich bei früheren Versuchen gerade gegen Formalin sehr widerstandsfähig erwiesen.

Die Technik der Versuche war die übliche, wie sie in mehrfachen Arbeiten aus dem Göttinger Institut beschrieben ist[5—8]). Die Seidenfäden wurden nach ihrem Aufenthalt im Desinfektionsmittel gründlich mit sterilem destillierten Wasser abgespült, dann in Bouillon gebracht und mindestens 6 Tage bei 36—37° gehalten. Die Prüfung in flüssigem Medium geschah in der Weise, daß 5 ccm einer 2-tägigen Bouillonkultur der betreffenden Mikroorganismen mit der gleichen Menge des Desinfiziens versetzt wurden, aus der Mischung wurde von Zeit zu Zeit eine Platinöse voll in ein Röhrchen mit Bouillon übergeimpft. Um den

---

1) Münchener medizin. Wochenschrift. 1901. No. 41.
2) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXVII. Heft 3.
3) Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XXVIII. No. 29.
4) Seydewitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. No. 3.
5) Schlepegrell, H. v., Trikresol Schering und Kresolum purum liquefactum Nördlinger als Desinfektionsmittel. Dissert. Göttingen. 1895.
6) Evers, R., Ueber antiseptisch wirkende Silberverbindungen. Dissert. Göttingen. 1897.
7) Köhnke, W., Ueber Chinosol, Kresochin, Nosophen und Antinosin als Desinfektionsmittel. Dissert. Göttingen. 1897.
8) Sülzer, Otto, Ueber den Desinfektionswert einiger Kresolpräparate. Dissert. Göttingen. 1897.

Die Bakterien waren abgetötet nach:

| | | Karbolsäure | | Altes Septoforma | | Neues Septoforma | | Formalinseife 25 Proz. | | | Formalinseife 10 Proz. | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 3 Proz. | 1 Proz. | 3 Proz. | 1 Proz. | 3 Proz. | 1 Proz. | 50 Proz. | 5 Proz. | 3 Proz. | 50 Proz. | 5 Proz. | 3 Proz. |
| Milzbrandsporenfäden | | 25 Tage | nach 95 T. noch lebend | 2—3 Tage | 6—7 Tage | 4—7 St. | 17 St. | 25 Min. | 3 St. | 9—10 St. | 2 St. | 6—7 St. | 16 St. |
| Staphylococcus aureus | Seidenfäden | 22—25 Min. | 5 St. | 22—23 St. | 2 Tage | 2½ St. | 8 St. | 25 Min. | 3 St. | 9—10 St. | 1 St. 50 Min. bis 2 St. | 5—6 St. | 15 St. |
| | Bouillon | 5 Min. | 27—30 Min. | 4 St. | 13 St. | 5 Min. | 1¾ St. | 6 Min. | 50 Min. | 3—4 St. | 9 Min. | 1 St. 40 Min. | 10—11 St. |
| | Wässerige Aufschw. | 1 Min. | 27—30 Min. | — | — | 5 Min. | 1¾ St. | — | — | — | — | — | — |
| Streptococcus | Seidenfäden | 3 Min. | 30—40 Min. | 90—100 Min. | 3 St. | 15—25 Min. | 40 Min. | 6 Min. | 40 Min. | 60 Min. | 8 Min. | 40 Min. | 70 Min. |
| | Bouillon | 1 Min. | 1 Min. | 1 Min. | 2—3 Min. | 1 Min. | 1 Min. | 1 Min. | 10 Min. | 12—14 Min. | 1 Min. | 4 Min. | 7—10 Min. |
| | Wässerige Aufschw. | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Typhusbacillus | Seidenfäden | 3 Min. | 25 Min. | 3 St. | 7 St. | 30 Min. | 100 Min. | 5—6 Min. | 20—22 Min. | 70—80 Min. | 8 Min. | 60 Min. | 2½ St. |
| | Bouillon | 1 Min. | 6 Min. | 2 St. | 6 St. | 20 Min. | 2 St. | 1 Min. | 13 Min. | 20 Min. | 1 Min. | 16—18 Min. | 70—110 Min. |
| | Wässerige Aufschw. | 1 Min. | 7 Min. | — | — | 16—17 Min. | 100 Min. | — | — | — | — | — | — |

Fehler zu vermeiden, daß die Bestandteile der Bouillon chemische Umsetzung mit dem Desinfiziens eingingen und dadurch die Wirkung desselben abschwächten, wurden die Versuche teilweise mit einer wässerigen, durch steriles Papier filtrierten Aufschwemmung desselben Mikroorganismus wiederholt, ohne daß sich aber wesentliche Unterschiede in den Resultaten herausgestellt hätten. Um einen Maßstab für die Desinfektionskraft der einzelnen Mittel und für die Widerstandsfähigkeit der verwendeten Mikroorganismen zu gewinnen, der die Möglichkeit bietet, die Ergebnisse mit denen anderer Untersucher zu vergleichen, wurden sämtliche Testobjekte auch an 1- und 3-proz. Karbolsäure geprüft.

Die Resultate finden sich in der Tabelle (siehe vorhergehende Seite): Demnach haben sich sämtliche Präparate in ihrer Wirkung auf Milzbrandsporen der Karbolsäure überlegen gezeigt. Sogar das schwächste der Mittel, das alte Septoforma, tötete in 1-proz. Lösung Milzbrandsporen in 6—7 Tagen, was eine 1-proz. Karbolsäure in 242 Tagen nicht fertig brachte. Das neue Septoforma brauchte nur 17 Stunden und die 25-proz. Formalinseife in 50-proz. Lösung nur 25 Minuten. Das stimmt mit den Erfahrungen früherer Beobachter, welche ebenfalls eine besondere kräftige Wirkung des Formalins auf Milzbrandsporen konstatieren konnten, überein.

Es konnte deshalb auch keineswegs überraschen, wenn den anderen Mikroorganismen gegenüber die Resultate weniger günstig ausfielen. Hier wurde die Karbolsäure fast nie erreicht, zum Teil blieben die Präparate sehr weit hinter ihr zurück, die Formalinseife verhältnismäßig weiter, als das Septoforma. Selbst die 50-proz. Lösung der 25-proz. Formalinseife erwies sich in den meisten Fällen gegen Staphylo- und Streptokokken und gegen Typhusbacillen weniger wirksam als eine 3-proz. Karbolsäure.

Bei der praktischen Verwertung dieser Resultate ist aber immer zu berücksichtigen, daß die rein bakteriologische Prüfung, so wichtig sie auch ist, doch nur eine Seite der Beurteilung bildet und deshalb nicht im stande ist, allein über den Wert eines Desinfektionsmittels zu entscheiden. Die Wertschätzung für die Praxis hängt außerdem von einer ganzen Reihe anderer Eigenschaften ab, die nicht Gegenstand dieser Untersuchung sein konnten.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. v. Esmarch, der mir bei dieser Arbeit freundlichste Anleitung und Unterstützung gegeben hat, ebenso Herrn Privatdozenten Dr. Reichenbach meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

---

# Ueber die Geisselfärbung.

Von Dr. **Gino de Rossi,**
Assistenten des hygienischen Instituts der Kgl. Universität in Pisa
(Prof. A. di Vestea).

Alle wohlbekannten Verfahren der Geißelfärbung von Loeffler, Nicolle und Morax u. s. w., sowie dasjenige, das ich vor kurzem als eine vorteilhafte Modifikation derselben vorgeschlagen habe, sind manchmal ohne Erfolg angewendet; die Gründe dieses Mißlingens sind folgende:

A. Die ungeeignete Herstellung des Bakterienmaterials, das keine oder nur wenige und mangelhafte Geißeln erkennen läßt;

B. das Mißlingen der Färbung, das einem Mangel (unsichtbare Geißeln) oder einem Uebermaß (verdorbene, durch Niederschläge bedeckte Geißeln) zuzuschreiben ist.

Die Untersuchungen und Beobachtungen, die ich im Laufe von 2 Jahren fortgesetzt habe, um die Ursache dieses Nichtgelingens zu ergründen und möglichst zu entfernen, haben mich zu folgenden Schlüssen gebracht, die teils schon bekannte Tatsachen bestätigen, teils andere für den Erfolg der Geißelfärbung sehr wichtige Verhältnisse feststellen.

## A. Ueber die Bereitung des Bakterienmaterials.

1) Die Präparate werden aus peptonisierten Agarkulturen hergestellt. Die Reaktion, der Salzgehalt, die Konzentration des Mediums sowie die An- oder Abwesenheit des Peptons scheinen, innerhalb gewisser Grenzen, keinen großen Einfluß auf die Geißelentwickelung zu haben. Dagegen ist auf den Nährboden ein besonderes Gewicht zu legen: **der Agar soll von frischer Herstellung** oder wenigstens keiner Verdunstung ausgesetzt und frisch wieder geschmolzen sein, so daß seine Oberfläche noch feucht vom Kondensationswasser ist.

Nur in den so erhaltenen Bakterienkolonieen findet die Entwickelung einer dünnen Schicht statt, welche, mit Wasser verdünnt, zahlreiche, mit gut konservierten Geißeln versehene Bakterien zeigt.

2) Die Kulturen sollen ganz jung, womöglich 10, 18, 24 Stunden alt sein. Das Temperaturoptimum für die Entwickelung der meisten Arten ist bei 37° C. Es gibt aber einige Arten, die nur bei Zimmertemperatur (15—20° C) zahlreiche Geißeln zeigen.

3) Im allgemeinen ist die Kultur nur zur Färbung geeignet, wenn die Untersuchung des hängenden Tropfens eine normale Beweglichkeit der Bakterien ergibt.

## B. Ueber die Färbung.

1) Der Erfolg der Färbung ist mit dem Entstehen (in richtiger Proportion) eines Niederschlages, der durch Verbindung des Alkali (Natrium oder Kalium) mit den verschiedenen, die Beize und das Färbemittel bildenden Substanzen erzeugt wird, untrennbar verbunden.

2) Meistens ist die mangelhafte oder übermäßige Wirkung der Farblösung auf die mangelhafte resp. übermäßige, von der Alkalimenge abhängige Erzeugung des Niederschlages zurückzuführen.

3) Die richtige Alkalimenge muß für jeden einzelnen Fall bestimmt werden, denn sie variiert aus vielen Ursachen und hauptsächlich nach der verschiedenen chemischen Zusammensetzung des Tannins, der Zeit, die von der Bereitung der Beize verflossen ist, u. s. w.

---

Um die Ursachen des Mißlingens der schon bekannten Methoden auszuschließen, habe ich mein erstes Verfahren der Geißelfärbung modifiziert, indem ich suchte, die oben erwähnten Hauptgründe anzuwenden. Wenn man die von mir unten angegebenen Anweisungen vollständig und genau befolgt, so wird meine Methode prachtvolle und ziemlich sichere Resultate liefern.

Da jede kleinere und dem Anscheine nach unbedeutende Einzelheit meiner Angaben nach langen und geduldigen Untersuchungen festgestellt worden ist, so wird es leicht begreiflich sein, daß die kleinste Abweichung oder Nachlässigkeit das gute Resultat verhindern kann.

Manchmal könnte meine Methode ungünstige Resultate geben — ich empfehle jedoch, bevor man sie als mangelhaft wegläßt, meinen Anweisungen mit der größten Sorgfalt bei jeder Einzelheit zu folgen.

### 1) Reinigung der Deckgläschen.

Die Deckgläschen werden mit Alkohol sorgfältig gereinigt und 10—15 Minuten lang in siedender Schwefelsäure gehalten. Dann werden sie mit Wasser wiederholt abgespült, in eine Mischung von Alkohol und Benzin zu gleichen Teilen gebracht, und nachdem sie mit einem ganz reinen Tuch abgewischt worden sind, werden sie mit einer Pinzette gefaßt und 40—50mal durch die ungefärbte Flamme eines Bunsenbrenners durchgezogen. Endlich werden die so bereiteten Deckgläschen umgekehrt hingelegt, und zwar in der Weise, daß die während des Flammendurchganges untengebliebene Glasfläche jetzt die freie Oberfläche wird.

Damit ist die vollkommene Reinheit der Deckgläschen und die leichteste Ausbreitung der Flüssigkeit erreicht; im entgegengesetzten Falle sehen wir während des Trocknens die Flüssigkeit in kleinen Tröpfchen zusammenfließen und das Bakterienmaterial ungleichmäßig und mangelhaft auf dem Deckgläschen verteilt werden.

### 2. Vorbereitung des Präparates.

Der als Nährboden benutzte, peptonisierte, schräg erstarrte Agar soll frisch hergestellt und in einem verschlossenen Gefäß gehalten werden. Nach einiger Zeit kommt das anfangs auf der Agaroberfläche befindliche Kondensationswasser zur Verdunstung, weswegen der Agar wieder gelöst werden muß, um ihn wieder schräg erstarren zu lassen.

Aus einer anderen Agarkultur bereitet man eine Strichkultur, ohne allerdings zu viel Material zu entnehmen. Nach 8—12 Stunden bei der Temperatur von 37 ° C, nach 18 Stunden bei der Temperatur von 15—20 ° sind die Kulturen schon hinreichend entwickelt. Viel jüngere oder viel ältere Kulturen können gute Präparate liefern, jedoch mit weniger Sicherheit. In dem oben erwähnten Zeitraum bildet sich gewöhnlich eine dünne, feuchte Schicht, die wenige fremde Substanzen enthält und sehr leicht verdünnt sein kann.

Ich empfehle, die Prüfung im hängenden Tropfen sofort zu machen, ohne allerdings das Material einer großen Verdünnung auszusetzen. Wenn die Verdünnung zu stark ist, werden manchmal die beweglichsten, mit zahlreichen Geißeln versehenen Bakterien ihre Bewegungen verlangsamen und auch ganz einbüßen; wenn dagegen das Material reichlich ist und die Bewegungen der einzelnen Bakterien nicht sehr deutlich sichtbar sind, wird man doch das charakteristische Gewimmel des ganzen Präparates beobachten können. Daß die Prüfung im hängenden Tropfen der fast sichere Beweis des Erfolges der Färbung ist, darüber liegt kein Zweifel vor.

Wenn man eine Kultur besitzt, die, im hängenden Tropfen geprüft, sich unbeweglich verhalten hat, wird es fast unnütz sein, die Geißelfärbung noch vorzunehmen.

Mit einer feinen Platinöse bringt man einen kleinen Teil des Bakterienmaterials in ein Töpfchen destilliertes Wasser hinein, welches sich auf einem ganz reinen Objektträger befindet. Wenn die durch leichte Bewegungen erreichte Verdünnung vollkommen ist, kommt eine Art weißlicher homogener Emulsion zum Vorschein.

Die manchmal unregelmäßig auftretende Verdünnung des Bakterienmaterials ist entweder dem nicht geeigneten Nährboden oder der zu alten Kultur und der ungünstigen Entwickelungstemperatur zuzuschreiben. Die Kultur ist alsdann zur Untersuchung ungeeignet, was die Prüfung im hängenden Tropfen bestätigen kann. Aber diesem Uebelstand wird gewiß vorgebeugt werden, wenn man meine Angaben berücksichtigt.

Ein Tropfen der so erhaltenen Emulsion wird mit einer Oese in ein Uhrschälchen gebracht, welches etwa 1 ccm (10—15 Tropfen) destillierten Wassers enthält und darin fein gerührt. Aus dieser zweiten Verdünnung und vorzüglich aus dem Zentrum der Flüssigkeitsoberfläche bringt man mit der Platinöse ein Tröpfchen auf jedes der schon bereiteten Deckgläschen und läßt sie, ohne die Tröpfchen auszubreiten, an freier Luft oder in einem Schwefelsäureexsikkator vollkommen austrocknen. Alsdann bleibt auf dem Deckgläschen ein weißlicher, kaum sichtbarer, die Grenzen des Tröpfchens bezeichnender Ring; dagegen soll der dem Zentrum des Tröpfchens entsprechende Teil ganz durchsichtig bleiben. Wäre das ganze Tröpfchen auf dem Deckgläschen sichtbar, dann müßte man der Färbung entsagen, die durch den Materialüberfluß oder durch die Anwesenheit von Verunreinigung verhindert sein würde.

### 3. Die Färbung.

Die so hergestellten und nicht fixierten Deckgläschen werden auf den Rand einer Pappe oder einer Glasplatte gelegt, so daß eine Ecke derselben frei bleibt und mit der Pinzette zu fassen ist. Auf jedes Gläschen gießt man nicht mehr als 3 oder 4 Tropfen des in einem Trichter enthaltenen, folgenderweise hergestellten Färbemittels: Man muß dafür Sorge tragen, daß es den Rand des Deckgläschens nicht überschreitet, was den Erfolg der Färbung beeinträchtigen würde.

A. Einer Lösung von 50 g reinster kristallisierter Karbolsäure[1])

---

1) Ich habe nur die reine kristallisierte Karbolsäure von Schering-Kahl-

in 1000 g destillierten Wassers fügt man 40 g reinsten Handelstannins hinzu[1]) und erwärmt auf dem Wasserbade bis zur völligen Lösung.

| | | |
|---|---|---|
| B. | Basisches Fuchsin (Rosanilinchlorhydrat[2]) | 2,5 g |
| | Absoluter Alkohol | 100 ccm |
| C. | Kaliumhydrat | 1 g |
| | Destilliertes Wasser | 100 „ |

Zuerst mischt man A und B und konserviert die so erhaltene Flüssigkeit in einem gut geschlossenen Gefäße. Die Lösung C muß in einer mit Tropfenzähler versehenen Flasche gehalten werden.

Wenn man die Färbung vornehmen will, gießt man eine kleine Menge (15—20 ccm) der A-B-Mischung in ein mit Glasstöpsel versehenes Reagenzglas und setzt 2—3 Tropfen der C-Lösung hinzu. Es bildet sich ein Niederschlag, der sich durch Schütteln rasch löst.

Die Kaliumlösung wird wieder tropfenweise zugefügt, indem die Mischung fortwährend geschüttelt wird. Die Flüssigkeit wird braun, dann trübe. Man hört mit dem Alkalizusatz auf, wenn in der über die Wände des Reagenzglases laufenden Flüssigkeit ein feiner staubartiger Niederschlag zu erkennen ist. Die Flüssigkeit wird einer wiederholten Filtration unterworfen, indem man sie auf dasselbe Filter und in dasselbe Gefäß (welches ein anderes vollkommen trockenes Reagenzglas sein kann) gießt, bis die filtrierte Flüssigkeit mehrere Minuten lang ganz klar bleibt.

Die so erhaltene Flüssigkeit gißt man wieder in das Filter, und wenn eine kleine Menge filtriert ist, läßt man 4—5 Tropfen derselben auf jedes schon bereitete Gläschen fallen.

Nach einiger Zeit kann man auf den Gläschen ein Schillern beobachten, das von einer Trübung und endlich einem Niederschlag gefolgt ist. Gleichzeitig findet die Geißelfärbung statt, die, wie schon gesagt, mit diesem Niederschlage des Färbemittels untrennbar verbunden ist. Nach einiger Uebung wird es nicht schwer sein, den günstigen Moment zu ergreifen, um das Präparat mit destilliertem Wasser zu waschen und dasselbe mit Fließpapier zu trocknen.

Da die verschiedenen Bakterienarten sich der Färbung gegenüber ungleich verhalten und eine verschiedene Färbungsdauer brauchen, wird es gut sein, 3 oder 4 Gläschen gleichzeitig zu färben und in dem einen die Färbung mit der Schillerentstehung, in dem anderen mit der ersten Trübung aufzuheben u. s. w.

---

Die Farblösung könnte auch ohne weiteres bereitet werden, wenn man die einem bekannten Volumen der A-B-Lösung zuzufügende Alkali-

baum-Schuchardt und viele andere Marken von anderen Lieferanten mit Erfolg angewandt; alle entsprachen unserem Zwecke, wenn sie rein und ungefärbt sind.

1) Weder das zu dunkle noch das der Luft zu lange ausgesetzte Tannin ist anzuwenden. Ich benutzte zahlreiche Qualitäten Tannins, das bekanntlich selbst in den verschiedenen Produkten einer Fabrik auffallende Zusammensetzungsunterschiede darbieten kann. Die besten Resultate haben mir folgende Arten gegeben: Tanninsäure von Schering (Berlin), Tanninsäure von Dr. Bick (Berlin), reine Tanninsäure von Schuchardt (Görlitz), reine lösliche Tanninsäure der Tanninfabrik Grab (Stuttgart), reine Tanninsäure von Zimmer u. s. w.

2) Ich benutzte folgende Produkte: Rosanilinchlorhydrat von Kahlbaum (Berlin), basisches Fuchsin von Dr. Grübler & Co. (Leipzig), Fuchsindiamant von Merck, basisches Fuchsin von Meister Lucius (Brüning), Fuchsindiamant von L. Cassella (Frankfurt) u. s. w.

menge berechnen wollte und eine der Flüssigkeit verhältnismäßige Alkalimenge sofort zusetzte, umrührte und in einem gut geschlossenen Gefäße aufbewahrte. So würde man eine immer fertige Lösung haben, die sich lange Zeit in einem geschlossenen Gefäß gut konserviert und vor jeder Färbung filtriert werden muß.

Man beachte aber, daß in der so hergestellten Flüssigkeit nach dem starken, durch den Alkalizusatz hervorgerufenen Niederschlag ein sehr langsamer Niederschlag von Färbesubstanz sich deutlich erkennen läßt, welcher dem auf den Deckgläschen sich rasch bildenden Niederschlag entsprechen muß.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Flüssigkeit immer weniger filtriert zu werden braucht, um klar zu bleiben; endlich wird die Mischung ganz klar und bleibt unverändert, wenn sie auch der Luft für längere Zeit ausgesetzt wird. Wenn die Bildung des Niederschlages fehlt, wird die Färbung nicht stattfinden.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

## Inhalt.

### Originalmitteilungen.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXIII. No. 8.

*Nachdruck verboten.*

# Ueber eine durch säurefeste Bakterien hervorgerufene Hauterkrankung der Ratten.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.]

Von Dr. **Lydia Rabinowitsch.**

Von den zahlreichen Arbeiten über die sogen. säurefesten tuberkelbacillenähnlichen Bakterien, die im Laufe der letzten Jahre erschienen sind, dürften wenige ein so hervorragendes Interesse beanspruchen, wie die in der vorigen Nummer dieses Centralblattes erfolgte Mitteilung Stefanskys[1]) über „Eine lepraähnliche Erkrankung der Haut und der Lymphdrüsen bei Wanderratten“. Bei einer großen Anzahl dieser Ratten konnte jener Autor einen Krankheitsprozeß konstatieren, welcher vornehmlich in Haut und Lymphdrüsen lokalisiert war. In den befallenen Partieen fand sich stets eine Unmenge ein und derselben Bakterienart, die ihrem färberischen Verhalten nach in die Gruppe der tuberkelbacillenähnlichen Bakterien gehört, und die Stefansky als die Urheber jenes eigentümlichen Krankheitsbildes ansieht. Außer den Tuberkel- und Leprabacillen konnten bisher wohl sämtliche anderen mehr oder weniger säurefesten Bakterien als Saprophyten angesprochen werden, da sie nur unter bestimmten Bedingungen im Tierversuche pathologische Veränderungen hervorzurufen im stande sind. Ob bei der in Peru endemisch und epidemisch auftretenden Hauterkrankung, Maladie de Carrion oder Verruga du Pérou[2]), die von einigen Autoren gefundenen säurefesten Bacillen mit dem Krankheitsprozeß in ätiologischen Zusammenhang zu bringen sind, ist noch nicht mit Sicherheit entschieden, da neben den genannten Bakterien noch andere Mikroorganismen im mikroskopischen Bilde sichtbar waren. Um so interessanter erscheint die durch säurefeste Bacillen hervorgerufene Rattenerkrankung, bei der Stefansky eine „rein drüsige“ und eine „hautmuskuläre“ Form (mit Beteiligung der Drüsen) unterscheidet. In den befallenen Drüsen und den erkrankten Hautpartien fanden sich die genannten Bakterien in Reinkultur und in einer solchen Menge, wie wir sie nur in Leprapräparaten zu sehen gewöhnt sind. Auch das histologische Bild zeigte sich nach der Beschreibung des Autors dem der leprösen Veränderungen nicht unähnlich.

Da das soeben kurz skizzierte Krankheitsbild bei 4—5 Proz. aller auf der bakteriologischen Station zu Odessa eingelieferten Ratten konstatiert wurde, war es bei der enormen Anzahl der täglich während der Pestepidemie[3]) untersuchten Ratten nicht auffällig, daß mir bei meinem Aufenthalt daselbst alsbald einige solcher Ratten von Dr. Stefansky gezeigt wurden, in deren Hautveränderungen ich die beschriebenen Stäbchen gleich im ersten Ausstrichpräparat in großer Menge wiederfinden konnte. Dieselben waren durchaus säure- und alkoholfest. Nach meiner

1) Vorläufige Mitteilung im „Russischen Wratsch“ 1902. No. 47.
2) Odriozola, Verruga Péruvienne. Paris (Carré et Naud) 1898. 217 pp.
3) Rabinowitsch u. Kempner, Die Pest in Odessa. (Deutsche medizinische Wochenschrift. 1903. No. 1. und 3.)

Rückkehr nach Berlin suchte ich nunmehr die Frage zu entscheiden, ob auch bei unseren Wanderratten der nämliche Krankheitsprozeß zu beobachten wäre, da ich trotz der zahlreichen während der letzten Jahre auf Trypanosomen untersuchten Ratten ein derartiges Bild nicht bemerkt hatte. Auch in den zahlreichen Publikationen der allerorts die Trypanosomeninfektion, sowie die Pest bei Wanderratten bearbeitenden Autoren konnte ich bisher keine diesbezüglichen Angaben finden.

Um so freudiger war ich überrascht, als sich gleich unter 10 Wanderratten der ersten Serie 2 Tiere (beide stammten aus derselben Quelle) fanden, an denen ich die von Stefansky beschriebenen Veränderungen, allerdings in sehr geringem Grade konstatieren konnte. In beiden Fällen handelte es sich um kleine, etwa linsengroße Stellen in der Brust- und Halsgegend, die durch ihre helle Farbe bei den grauen Ratten auffielen. Diese mitunter ziemlich kahlen Stellen waren teils mit Borken besetzt, teils zeigten sie geringe Erhebungen und geschwürigen Zerfall, nur bei der einen Ratte konnte ein etwa erbsengroßer Axillarbubo festgestellt werden. Auf den Ausstrichpräparaten der inzidierten Hautpartien fanden sich haufenweise nach Ziehl-Neelsen gefärbte säurefeste Stäbchen, die nur an den ulcerierten Stellen mit einigen Kokken vergesellschaftet waren. Auch in den von der ziemlich derben Drüse angelegten Präparaten zeigten sich die Bacillen, wenn auch nicht so zahlreich wie in der Haut, so doch in weitaus größerer Menge, als wir sie in tuberkulösen Veränderungen zu sehen gewohnt sind. Die Tiere machten durchaus keinen kranken Eindruck, wie ihn Stefansky bei den Ratten beschreibt, die wohl im Vergleich zu unseren Tieren eine viel schwerere und über den ganzen Körper verbreitete Hauterkrankung aufwiesen.

Was die auch in unseren Präparaten so zahlreich vorhandenen Bakterien betrifft, so stellen sie sich als feine schlanke Stäbchen, etwa von der Größe der Smegma- oder Leprabacillen dar, die wir im allgemeinen für etwas kürzer als die Tuberkelbacillen ansehen. Doch läßt sich ein genauer Vergleich mit dem Tuberkelbacillus nicht ziehen, da es auch uns bisher nicht geglückt ist, die fraglichen Bakterien auf künstlichen Nährböden zu züchten. Uebrigens ist die Bacillenlänge auf Grund unserer Kenntnisse über die morphologische Variabilität der Bakterien ein im allgemeinen nur unzuverlässiges Kriterium. So haben die bisherigen Messungen von Tuberkelbacillen verschiedener Provenienz nicht auf eine gewisse Regelmäßigkeit in dieser Richtung schließen lassen. Die Säure- und Alkoholfestigkeit der Rattenbakterien ist, wie gesagt, eine ausgesprochene, sie nehmen vielleicht den Farbstoff etwas leichter an als Tuberkelbacillen; vergleichende färberische Untersuchungen mit Leprabacillen waren mir zur Zeit nicht möglich. Bei eingreifender Behandlung mit Jod und Salpetersäurealkohol zeigen sich „gekörnte“ Formen. Besagte Stäbchen färben sich übrigens nach Gram. Einen sicheren Anhaltspunkt auf Grund der morphologischen und tinktoriellen Verhältnisse allein können wir demnach nicht gewinnen.

Ich möchte hier noch kurz auf vergleichende Untersuchungen der Rattenbakterien mit den in den letzten Jahren beschriebenen säurefesten Butter-, Mistbacillen etc. eingehen, worüber Stefansky noch nichts mitgeteilt hat. Auch eine von mir nach dem Vorgange von Herr aus Bodenerde isolierte Kultur, die ebenfalls zu der großen Gruppe der saprophytischen säurefesten Bakterien gehört, wurde herangezogen. Es lag ja die Vermutung nahe, daß den in Schmutz und Unrat hausenden Wanderratten jederzeit und allerorts Gelegenheit zur Infektion mit den soeben

genannten Bakterien gegeben sei, und daß diese das von Stefansky beschriebene jedenfalls chronische Bild der Haut- und Drüsenerkrankung bedingten. Die Rattenerkrankung würde dann ein Analogon darstellen, zu der in der menschlichen Pathologie neuerdings, zumal von amerikanischen Autoren so häufig beschriebenen „Blastomycetic Dermatitis", bei der es sich wahrscheinlich um eine sekundäre Invasion von Hefepilzen in die verletzte Hautoberfläche handelt. Mit diesen Erdbakterien schon früher wie auch letzthin an Mus decumanus angestellte Infektionsversuche konnten durchaus nicht ein der Rattenerkrankung auch nur im entfernten ähnliches Bild hervorrufen. Daß die Rattenbakterien unseres Erachtens nicht mit diesen Mistbakterien identisch zu sein scheinen, bewiesen uns ferner vergleichende Ausstrichpräparate aus den Organen von Mäusen und Meerschweinchen, die mit den Mist- und Erdbakterien infiziert waren. Diese, wie die anderen säurefesten Saprophyten sind im großen und ganzen etwas größer wie die Rattenbakterien, und geben ihren Farbstoff leichter an Entfärbungsmittel wieder ab, sie zeigen zuweilen kolbige Anschwellungen und Verzweigungen, Eigenschaften, die bei den Rattenbacillen bisher nicht beobachtet werden konnten.

So sehr die tuberkelbacillenähnlichen Bakterien in der Milch oder Smegmabacillen im Harn zur Verwechselung mit echten Tuberkelbacillen Anlaß geben können, so zeigen im Gegensatz hierzu die von den erkrankten Hautpartieen der Ratten gefertigten Präparate ein grundverschiedenes Aussehen von denjenigen, die von tuberkulösen oder durch tuberkelbacillenähnliche Bakterien bedingten Veränderungen stammen. Wenn demnach Stefansky das histologische Bild der von ihm beschriebenen Haut- und Drüsenerkrankung der Ratten mit dem lepröser Veränderungen vergleicht, so stehe ich nach meinen bisherigen Untersuchungen nicht an, eine große Aehnlichkeit der Rattenbacillen mit den Leprabacillen in morphologischer und tinktorieller Beziehung anzunehmen. Diese Annahme wird ferner gestützt durch die negativen Kulturversuche. Auch mir ist es, wie bereits oben gesagt, nicht gelungen auf den gewöhnlichen Nährböden, die mit einer Emulsion der befallenen Hautpartieen beschickt wurden, eine Kultur zu erzielen, obwohl die fraglichen Bakterien in dem Ausgangsmaterial in enormer Menge zumeist in Reinkultur enthalten waren. Nur auf einer Glycerinagarplatte, auf der allerdings eine ziemlich dichte Emulsion ausgestrichen war, glaubte ich nach einigen Tagen eine Kolonie zu erkennen, die aber nicht weiter fortgezüchtet werden konnte. Auch die anaërobe Züchtung ergab ein negatives Resultat. So zeigten mir also auch die negativen Kulturversuche, daß die Rattenbakterien nicht mit den sogenannten säurefesten Arten identisch zu sein scheinen, mit denen ich mich seit einer Reihe von Jahren eingehend beschäftigt habe, und deren Reinkultivierung selbst aus einem Bakteriengemisch ohne große Schwierigkeiten gelingt.

Nicht viel mehr Glück hatte ich bisher mit den Tierversuchen, über die ich allerdings noch kein abschließendes Urteil geben kann, da seit der Impfung erst 4—5 Wochen verstrichen sind [1]). Mäuse, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen wurden teils kutan, teils subkutan mit einer Emulsion infiziert, einige Tiere ferner in die Bauchhöhle gespritzt. Auch dicke Emulsionen wurden gut resorbiert, einmal trat an der Impfstelle ein Absceß auf, in welchem sich die injizierten säurefesten Bakterien

---

1) Anmerkung bei der Korrektur: Auch nach 2—3-monatlicher Frist waren noch keine äußeren Zeichen einer Erkrankung wahrnehmbar.

wieder fanden. Einige Tiere wurden nach 4 Wochen getötet, etwaige tuberkulöse Veränderungen wurden nicht angetroffen.

Ob die von Stefansky entdeckte bacilläre Hauterkrankung der Ratten allenthalben zu beobachten ist und ob sie etwa einen mehr epizootischen Charakter trägt, wird sich vielleicht aus weiteren Untersuchungen ergeben.

---



# Untersuchungen über die Virulenz der aus verschiedenen tuberkulösen Herden des Menschen reingezüchteten Tuberkelbacillen.

[Aus dem pathol.-anat. Institute (Direktor: Prof. O. Pertik) und der chirurg. Klinik No. I (Direktor: Prof. J. Dollinger) der kgl. ungar. Universität Budapest.]

Von

**Dr. E. Krompecher** und **Dr. K. Zimmermann**

Privatdozent für pathol. Histologie und Bakteriologie. Assistent der chirurg. Klinik No. I.

Nachdem der Tuberkelbacillus entdeckt und bei den verschiedenartigsten tuberkulösen Erkrankungen nachgewiesen war, drängte sich die so viel diskutierte Frage auf, ob die Tuberkulose der Knochen, der Gelenke, der Lymphknoten, der Haut im Gegensatze zu anderen tuberkulösen Affektionen, z. B. zu der Lungentuberkulose, deshalb einen so langsamen Verlauf zeigt, weil bei den erwähnten Erkrankungen die Virulenz der Bacillen abgenommen hat, oder ob der protrahierte Verlauf dieser Erkrankungen auch durch die geringe Zahl der hier vorhandenen Tuberkelbacillen zu erklären sei. Seitdem Arloing die Beobachtung machte, daß Kaninchen und Meerschweinchen, welche mit Material von menschlicher Lungentuberkulose geimpft waren, an allgemeiner Tuberkulose eingehen, während mit Knochen-, Lymphknotentuberkulose u. s. w. geimpfte Tiere höchstens an lokalisierter Tuberkulose erkranken, nimmt ein großer Teil der Autoren (Denis, Pégurier, d'Arrigo u. s. w.) mit Arloing an, daß die Lungentuberkulose durch virulente, die Knochen-, Gelenk-, Lymphknoten- und Hauttuberkulose hingegen durch wenig virulente (attenuierte) Tuberkelbacillen bedingt ist und halten dafür, daß die chirurgische Behandlung bei ersterer zu vermeiden — bei letzterer hingegen angezeigt sei. Demgegenüber leugnen andere Autoren (Nocard, Renzi, Leloir, Strauss, Auclair, Eve, Cornet u. a.) die bei den verschiedensten tuberkulösen Prozessen angenommenen Virulenzunterschiede und glauben, daß der langsame Verlauf der sogenannten chirurgischen Tuberkulose durch die geringe Zahl der Tuberkelbacillen bedingt ist. Zu Gunsten dieser Annahme führen sie ins Feld, daß bei der Lymphknotentuberkulose und beim Lupus im Gewebe tinktoriell wenig Bacillen gefunden werden, daß die mit diesem Materiale geimpften Tiere, wenngleich langsam, so doch an Tuberkulose zu Grunde gehen, daß die Virulenz der in vereinzelten Fällen aus derart eingegangenen Tieren reingezüchteten Tuberkelbacillen der Virulenz anderer Tuberkelbacillen gleich sei, daß

weiterhin Individuen, welche an Lymphknotentuberkulose leiden, nicht selten an generalisierter Tuberkulose zu Grunde gehen und daß man endlich gar nicht erst zu beweisen brauche, welchen Einfluß die Zahl der so langsam wachsenden Bacillen auf die Art und den Verlauf der Infektion ausübt.

In der soeben geschilderten Form konnte die Virulenzfrage des Tuberkelbacillus bloß in der ersten Zeit nach der Entdeckung dieses Bacillus, welche man mit Hüppe als orthodoxe Periode der Bakteriologie bezeichnen kann, gestellt werden, als man bloß mit den Bacillen rechnete und den Verlauf der Erkrankung ausschließlich als von deren Giftigkeit und deren Menge abhängig betrachtete. Heute hingegen, wo wir außer den Bacillen auch den Organismus in Betracht ziehen und wo wir wissen, daß der verschiedene Verlauf der Tuberkulose auch von der verschiedenartigen Disposition der verschiedenen Organe und Individuen abhängt, kann die Frage in der oben geschilderten Form nicht diskutiert werden; und wenn man heute von der Virulenz der im menschlichen Körper vorhandenen Tuberkelbacillen spricht, so fragt es sich bloß, ob die aus den verschiedenen tuberkulösen Organen gezüchteten Tuberkelbacillen gleich virulent sind oder nicht.

Auch kann eine so wichtige und in praktischer Hinsicht so bedeutungsvolle Frage, wie die der Virulenz der bei der menschlichen Tuberkulose vorhandenen Bacillen nicht einfach spekulativ entschieden werden, wie dies mehrere Autoren tun, sondern kann bloß experimentell beantwortet werden. Prüfen wir jedoch die zur Klärung dieser Frage bisher unternommenen Experimente, so finden wir, daß selbe in vieler Hinsicht anfechtbar sind und zur endgültigen Entscheidung der Frage nicht ausreichen. Denn erstens wurde die Virulenz der bei den verschiedenartigen tuberkulösen Erkrankungen vorhandenen Tuberkelbacillen an einem umfangreicheren Materiale systematisch überhaupt noch nicht studiert, sondern bloß in vereinzelten Tuberkulosefällen auf die Virulenz der betreffenden Bacillen gefolgert, zweitens sind die bisherigen Experimente auch insofern zu beanstanden, als die bei denselben befolgte Technik falsch war. So impfte beispielsweise Arloing die Tiere mit dem tuberkulösen Materiale selbst und folgert aus der Schwere der bei diesen Tieren vorhandenen tuberkulösen Prozesse auf die Virulenz der Bacillen. Daß auf diese Weise keine einwandsfreien Resultate zu erhalten sind, liegt auf der Hand, da ja bei diesen Experimenten die Menge der in den Körper geführten Tuberkelbacillen unbekannt blieb und auch nur annähernd nicht bestimmt werden kann; denn wenn man aus dem Materiale selbst Trockenpräparate bereitet und nach Ziehl-Neelsen färbt, so fragt es sich doch noch, wie viel der im Präparate sichtbaren Bacillen lebend und entwickelungsfähig waren, da sich ja die toten Bacillen ebensogut färben, wie die lebenden. Impft man hingegen, wie Auclair es tat, die Versuchstiere mit tuberkulösem Materiale, legt aus deren tuberkulösen Lymphdrüsen Reinkulturen an und bestimmt weiterhin aus den tuberkulösen Veränderungen, welche mit gleichen Dosen dieser Reinkultur geimpfte Tiere erkennen lassen, die Virulenz der Tuberkelbacillen, so läßt sich hiergegen anführen, daß die Virulenz des Tuberkelbacillus nach der Passage durch den Tierkörper ebenso beeinträchtigt werden könne, wie z. B. die des Streptococcus oder des Schweinerotlaufes nach Passage durch gewisse Tiere, und daß die Virulenz der aus dem Tierkörper reingezüchteten Tuberkelbacillen nicht mehr dieselbe sei, wie sie beim Menschen war. Durch letzteres

Verfahren wurde daher die Virulenz der Versuchstier-Tuberkelbacillen und nicht die der Tuberkelbacillen der menschlichen Tuberkulose bestimmt. In den gleichen Fehler verfiel auch Fleischmann, der im hiesigen pathologisch-anatomischen Institute No. II die Virulenz der Bacillen menschlicher Tuberkulose in zahlreichen Fällen untersuchte und dessen Untersuchungen uns zum Studium vorliegender Frage anregten und den Ausgangspuukt dieser Arbeit bilden. In gleicher Weise suchte auch Dr. Veszprémi im pathologisch-anatomischen Institute der Universität zu Kolozsvár die Virulenz der bei verschiedenartigen tuberkulösen Affektionen des Menschen vorhandenen Tuberkelbacillen zu bestimmen und dieses Verfahrens bedienten sich auch Ravenel und Mazyck bei der Prüfung der Virulenz tuberkulöser Produkte menschlicher und tierischer Herkunft.

Der einzige Autor, der bisher die Virulenz der direkt aus dem menschlichen Körper gezüchteten Tuberkelbacillen studierte, ist Vagedes, der im Koch schen Institute die Virulenz von 18 aus Lungentuberkulose des Menschen reingezüchteten Tuberkelbacillen bestimmte und dessen Untersuchungen sich demnach im allgemeinen auf die Virulenz der Lungentuberkulosebacillen beziehen. Da jedoch Vagedes — wie weiter unten noch ausführlich erörtert werden soll — teilweise gleichfalls mit Tierpassagekulturen arbeitete und so zum Teil auch die Virulenz tierischer Tuberkelbacillen bestimmte und weiterhin der Zeit, innerhalb welcher die tuberkulösen Tiere eingingen, nicht Rechnung trug, sind seine Folgerungen auch fehlerhaft.

Indem es sich so bei Inanbetrachtnahme all der erwähnten Fehler herausstellte, daß all die Untersuchungen, welche sich auf die Virulenz der im menschlichen Körper vorhandenen Tuberkelbacillen beziehen, unzuverlässig sind: schien es gerechtfertigt, die Frage nochmals einem genauen experimentellen Studium zu unterwerfen.

Von einer genauen Schilderung der Literaturangaben glauben wir Abstand nehmen zu können, da sich selbe, wie erwähnt, ja größtenteils auf die Virulenz der tierischen Tuberkulose beziehen und die diesbezügliche Literatur ausführlich in der unlängst erschienenen, die „Skrofulose“ betitelten Arbeit von Cornet zusammengestellt ist.

Aus dem bisher Geschilderten geht unzweideutig hervor, daß die von uns gestellte Frage: inwiefern bei den verschiedenen Formen der menschlichen Tuberkulose verschiedene Virulenzgrade, d. h. qualitative — und inwiefern verschiedene Mengen, d. h. quantitative Unterschiede, oder beide gemeinsam beteiligt sind, einwandsfrei bloß dann beantwortet werden kann, wenn die Tuberkelbacillen bei den verschiedenen Formen menschlicher Tuberkulose direkt aus dem menschlichen Organismus reingezüchtet werden, mit gleichen Dosen womöglichst gleich alter Reinkulturen nahezu gleiche Tiere geimpft werden und aus den bei denselben innerhalb gewisser Zeit auftretenden Veränderungen Rückschlüsse auf die bei der Infektion vorhandenen Momente, unter anderem auch auf die Virulenz der Tuberkelbacillen, gezogen werden.

Diese Prinzipien vor Augen haltend, experimentierten wir seit Anfang März 1901 im pathologisch-anatomischen Institute No. II fast ausschließlich mit frischem tuberkulösen Materiale, welches auf der I. chirurgischen Klinik operativ steril entfernt wurde, und können auch an dieser Stelle nicht unterlassen, unseren geehrten Lehrern, Herrn Prof. Pertik und Herrn Prof. Dollinger, für das bereitwillige Entgegenkommen unseren besten Dank zu sagen.

Die erwähnte Anordnung unserer Experimente erforderte vor allem das Anlegen von Tuberkelbacillen-Reinkulturen direkt aus dem menschlichen Organismus, d. h. eine Sache, die im allgemeinen für sehr schwierig gehalten wird und schon an und für sich viele vom Experimentieren abschreckt. Wie wenig diese direkte Reinzüchtung aus dem menschlichen Organismus im allgemeinen geübt wird, geht schon daraus hervor, daß man zwecks Anlegens einer Reinkultur das Tuberkelbacillen enthaltende Sekret gewöhnlich vorerst einem Meerschweinchen subkutan einimpft und Reinkulturen bloß aus den nach 2—3 Wochen verkästen inguinalen Lymphknoten angelegt werden.

Daß unter diesen Umständen auch wir nicht mit der besten Hoffnung an die direkte Reinzüchtung der Tuberkelbacillen aus dem menschlichen Körper schritten, ist leicht verständlich; um so größer war aber auch unsere Freude, als uns dieselbe im vollsten Maße gelang und so das Gelingen unseres Unternehmens schon hierdurch bis zu einem gewissen Grade als gesichert zu betrachten war.

Von einer Reinkultivierung der Tuberkelbacillen aus Lungentuberkulose konnte vorläufig abgesehen werden, da ja Vagedes ausschließlich Lungentuberkelbacillen rein züchtete und deren Virulenz bestimmte. Vielmehr war es uns darum zu tun, die Tuberkelbacillen aus tuberkulösen Lymphdrüsen, verschiedenen tuberkulösen Knochenaffektionen, Tendovaginitis, kalten Abscessen u. s. w. reinzuzüchten und deren Virulenz nach der Methode von Vagedes — doch mit Inanbetrachtnahme der Zeit — zu bestimmen, um hierdurch die von diesem Autor erhaltenen Resultate und unsere Ergebnisse bezüglich der Virulenz vergleichen und so auf das Verhalten der Tuberkelbacillen bei der Lungentuberkulose und den übrigen tuberkulösen Erkrankungen schließen zu können.

In Anbetracht dessen, daß das von uns geübte Verfahren der Reinzüchtung des Tuberkelbacillus trotz seiner Einfachheit noch so wenig gepflegt wird und gewisse Vorsichtsmaßregeln erfordert, soll im folgenden vorerst eine etwas ausführlichere Schilderung desselben gegeben werden.

An Stelle des älteren, auch von Vagedes bei seinen Untersuchungen verwendeten erstarrten Rinderblutserums mit 2,5 Proz. Glycerinzusatz gebrauchten wir zur Züchtung der Tuberkelbacillen die von den französischen Autoren empfohlenen Glycerinkartoffeln, die derart präpariert werden, daß die mittels eines Kartoffelbohrers ausgestochenen Kartoffelcylinder der Länge nach halbiert werden, in 5-proz. Glycerinwasser geweicht und in ziemlich weite, beiläufig 5 cm über dem Boden etwas verjüngte Reagensgläser gebracht werden. Nachdem die Reagensgläser bis zur verjüngten Stelle, d. h. bis dahin, wo die Kartoffel reicht, mit 5-proz. Glycerinwasser gefüllt, mit Watte zugestopft und $^1/_2$ Stunde bei 120° sterilisiert werden, sind sie zum Gebrauche fertig.

Bei der Impfung ist es ratsam, mit dem tuberkulösen Materiale nicht zu sehr zu sparen. Insbesondere bei Material, das aus tuberkulösen Lymphknoten, Lupus, Knochentuberkulose, kalten Abscessen stammt und unter dem Mikroskop oft gar keine Tuberkelbacillen erkennen läßt, ist es ratsam, recht viel davon auf die Kartoffel zu bringen. Ist die Kartoffel derart beschickt, so ist es — um das Austrocknen zu vermeiden — unumgänglich nötig, selbe mit einer Gummikappe zu versehen; doch auch dabei muß vorerst der ganze Wattepfropf mit einer Pinzette gefaßt, in der Flamme ausgebrannt werden; dann erst wird er

in das Reagensgläschen gesteckt und die in Sublimat geweichte Gummikappe aufgezogen. Bei Vernachlässigung dieser letzten Vorsichtsmaßregel kann es leicht vorkommen, daß die auf der Oberfläche des Wattepfropfens haften gebliebenen Keime, insbesondere die Schimmelpilze, die Watte durchwachsen, auf den Nährboden fallen und derselbe so nach einigen Tagen von Hyphomyceten übersät ist und unbrauchbar wird.

Daß der Glyceringehalt die Virulenz der Tuberkelbacillen abschwäche, wie dies Yersin angab, ist sowohl von Strauss und Gamaleia als auch von Vagedes experimentell widerlegt worden. Schon Vagedes zeigte, daß ein 5 Generationen umfassendes Wachstum auf Kartoffeln und auf Fleischextrakt-Glycerinagar keine bemerkenswerte Aenderung in der Virulenz der Tuberkelbacillen hervorbrachte und auch der Vergleich der Virulenzbefunde von Vagedes mit den unserigen ergibt — wie weiter unten gezeigt werden soll — daß die Virulenz der auf Glycerinkartoffeln und der auf erstarrtem Glycerin-Rinderblutserum gezüchteten Tuberkelbacillen keine nennenswerten Unterschiede zeigt.

Diese eventuelle Beeinflussung der Virulenz durch die verschiedenen Nährböden, namentlich durch die Kartoffel und durch das Rinderserum, bringen wir absichtlich schon hier zur Sprache, da man ja einwenden könnte, daß Vagedes die menschlichen Tuberkelbacillen der Lunge auf Rinderserum, wir hingegen die Bacillen der chirurgischen Tuberkulosen auf Kartoffeln züchteten und demnach die Versuchsergebnisse nicht verglichen werden könnten. Dieser Einwurf wäre auch berechtigt, wenn es sich herausgestellt hätte, daß die auf Kartoffeln gezüchteten Bacillen weniger virulent seien als die auf Rinderserum gezüchteten, da dann mit Sander daran gedacht werden könnte, daß die Virulenzabschwächung durch den Kartoffelnährboden bedingt sei. Da es sich jedoch zeigte, daß unsere auf Kartoffeln gezüchteten Bacillen chirurgischer Tuberkulose für Kaninchen mindestens ebenso virulent sind, als die auf Rinderserum gezüchteten Lungentuberkulosebacillen, fällt für unsere Fälle die Annahme Sanders, daß der Kartoffelnährboden eventuell die Virulenz schwächt, von selbst weg, da ja nicht recht anzunehmen ist, daß die Bacillen der chirurgischen Tuberkulose noch virulenter seien, als die der Lungentuberkulose. Im übrigen kommen wir auf diesen Punkt noch weiter unten zurück; auch sind Untersuchungen bezüglich des Verhaltens der Virulenz von Tuberkelbacillen auf künstlichen Nährböden im pathologisch-anatomischen Institute No. II im Gange, über welche seinerzeit berichtet werden soll.

Daß das Material stets aseptisch und bloß von solchen Fällen genommen wurde, wo eine sekundäre Infektion von außen her, z. B. durch Fistelgänge hindurch, ausgeschlossen werden konnte und daß bloß solche Fälle in Betracht gezogen wurden, die vorher nicht etwa mit Jodoform oder Jodoformglycerin behandelt wurden, sei bloß der Vollständigkeit wegen erwähnt. In der Regel wurden 2—3, ja selbst mehr Oesen auf der Kartoffel verstrichen und von jedem Falle 2 Kulturen angelegt. Gleichzeitig mit der Verimpfung auf Kartoffeln wurden von dem tuberkulösen Materiale auch Deckglaspräparate nach Ziehl-Neelsen gefärbt und je 2 Meerschweinchen mit je 2—5 ccm des Materials subkutan, intraperitoneal oder zugleich subkutan und intraperitoneal geimpft. Um eventuelle Virulenzdifferenzen zwischen den direkt aus dem menschlichen Körper gezüchteten und den durch Meerschweinchen passierten Bacillen nachweisen zu können, legten wir in einigen Fällen auch Reinkulturen aus Meerschweinchen-Passagekulturen an und bestimmten sowohl die

Virulenz dieser als auch der direkt aus dem menschlichen Körper reingezüchteten Kulturen. Zwecks Bestimmung der Virulenz impften wir gleiche Mengen nahezu gleich alter Kulturen annähernd gleich schweren Kaninchen intravenös. Trotzdem — wie erwähnt — selbst Monate hindurch gezüchtete Reinkulturen keine Virulenzabschwächung für Kaninchen erkennen lassen, impften wir doch stets mit der ersten Generation. Im allgemeinen war das Wachstum der Kultur in der 3.—4. Woche nach der Anlage so weit fortgeschritten, daß selbe mit freiem Auge sichtbar war und in der 5.—7. Woche so weit entwickelt, daß sie zur Impfung verwendet werden konnte. Anfangs impften wir mit jeder Reinkultur 2 Kaninchen und zwar eines mit $^1/_4$ mg, das andere mit 2 mg. Um stets mit möglichst gleichen Mengen zu arbeiten, bestimmten wir genau das Gewicht derjenigen Bacillenmenge, welche an einer Oese haften blieb, brachten danach $^1/_4$ resp. 2 mg der Kulturen in ein steriles Spitzglas, verrieben selbe mit sterilem Wasser zu einer Emulsion und injizierten die ganze Menge in die Randvene des Kaninchenohres. — Blieb etwas Material am Boden des Gefäßes zurück, so verrieben wir es abermals mit etwas sterilem Wasser und injizierten es nachträglich in die Vene. Auf diese Weise waren wir gesichert, daß das Tier tatsächlich die gewünschte Menge von $^1/_4$—2 mg erhielt, während man bei der Injektion einer Emulsion vielfachen Fehlern ausgesetzt ist. Verreibt man z. B. 1 mg Kultur mit 4 ccm Wasser zu einer Emulsion und injiziert man 1 ccm derselben, so erhält das Tier in diesem Falle bloß $^1/_4$ mg, wenn man genau darauf achtet, daß die Bacillen in der Emulsion gleichmäßig verteilt sind und nicht die gröberen Partikel zu Boden sinken. Die Menge von $^1/_4$—2 mg injizierten wir deshalb, weil auch Vagedes seine Kaninchen meist mit $^1/_4$ mg und mehr seiner Reinkulturen von Lungentuberkulosebacillen intravenös impfte und unsere Ergebnisse so mit denen von Vagedes bezüglich der Virulenz der Bacillen verglichen werden konnten. Um auch bezüglich des Verhaltens des Gewichtes und der Temperatur der tuberkulösen Tiere Aufschluß zu erhalten, bestimmten wir auch an einer Serie tuberkulös infizierter Kaninchen 2 bis 3 Wochen hindurch täglich die Temperatur und wogen die Tiere vor der Infektion und nach dem Tode.

Insgesamt wurden auf diese Art nachstehende 30 Fälle (s. p. 586—588) chirurgischer Tuberkulose untersucht.

Ohne hier näher auf die anamnestischen Daten einzugehen, sei bloß darauf aufmerksam gemacht, daß 4 dieser Fälle (I, V, XX, XXII) 2—3 Wochen vorher mit Jodoform behandelt wurden und die hieraus gezüchteten Bacillen doch in Gaben von $^1/_4$ mg Kaninchen nach 20—29 Tagen unter ausgesprochener Lungen- und nach 45—60 Tagen unter ausgebreiteter allgemeiner Tuberkulose töteten; vergleicht man diese Wirkung mit der derjenigen Bacillen, welche aus vorher nicht mit Jodoform behandelten Geweben gezüchtet wurden, so findet man, daß die durch erstere hervorgerufenen Veränderungen mindestens ebenso ausgesprochen sind, wie die der letzteren, und hieraus kann gefolgert werden, daß eine 2—3 Wochen vorher vorgenommene Behandlung der Tuberkulose mit Jodoform die Virulenz der Bacillen nicht im geringsten beeinträchtigt. Diese Erfahrung stimmt auch mit den Versuchsergebnissen von Trojè und Tangl überein, welche Autoren nachwiesen, daß mit Jodoform behandelte Reinkulturen von Tuberkelbacillen zwar eine erhebliche Abschwächung der Virulenz erfahren, daß hingegen das in den

| No. | Kultur | | Meerschweinchen | | | Kaninchen | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Herkunft | Entwickelung | Geimpfte Menge des verkästen Materials | Tod nach | Patholog. Befund | Geimpfte Menge der Reinkultur | Tod nach | Pathologischer Befund | |
| I | Coxitis tbc. | 26 Tage | 4,0 ccm subk. 1,0 „ intrap. | 33 Tagen | Leber-, Milztuberkulose | | | | |
| II | Lymphadenitis tbc. colli | 20 „ | 2,0 „ subk. 1,0 „ intrap. | 28 „ | desgl. | | | | |
| | desgl. | 21 „ | 1,0 „ subk. | 28 „ | desgl. | 0,25 mg | 16 Tagen | Miliare Lungentuberkulose, Pleuritis, Pericarditis, fibrinosa, Milztumor. Degen. adip. hepatis | am 14. Tage 40,1° |
| | | | 1,0 „ intrap. | | | 2,0 „ | 35 „ | verbreitete miliare Lungentuberkulose, Milztumor, Degen. adip. hepat. | Gewichtsverlust 590 g am 18. Tage 40,7° |
| | desgl. | 24 „ | 5,0 „ subk. | 30 „ | desgl. | | | | |
| III | desgl. | 20 „ | 5,0 „ „ | 2 „ | — | 0,25 „ | 17 „ | miliare Lungentuberkulose, Milztumor | am 14. Tage 41,3° |
| | | | | | | 2,0 „ | 16 „ | miliare Lungentuberkulose, Degen. adip. hepatis, Milztumor | Gewichtsverlust 320 g |
| | desgl. | 20 „ | 2,5 „ subk. 2,5 „ intrap. | 35 „ | Leber-, Milz-, Lungentbk. | | | | |
| IV | Tendovaginitis tbc. | 24 „ | 2,5 „ subk. | 6 „ | — | 0,25 „ | 20 „ | miliare Lungentuberkulose, Milztumor | Gewichtsabnahme 350 g am 14. Tage 40,2° |
| | | | 2,5 „ intrap. | | | 2,0 „ | 14 „ | verbreitete miliare Lungentuberkulose, Milztumor, Degen. adip. hepatis | |
| V | desgl. | 24 „ | 2,5 „ subk. | 71 „ | Leber-, Milz-, Lungentbk. | 0,25 „ | 60 „ | verkäste Lungentuberkel, Nierentuberkulose, Milz normal | Gewichtsabnahme 320 g |
| | | | 2,5 „ intrap. | | | 0,25 „ [1] | 21 „ | miliare Lungentuberkulose, Milztumor | |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| VI | Lymphadenitis tbc. colli | Staphyl.-Infektion | 2,0 „ subk. 2,0 „ intrap. | 24 „ | Leber-, Milz-tuberkulose | | | | |
| VII | desgl. | 23 Tage | 1,0 „ subk. | 46 „ | Leber-, Milz-, Lungentbk. | 0,25 „ | 35 „ | ausgebreitete Lungentuberkulose, Lebertuberkulose | am 14. Tage 40,3° Gewichtsverlust 330 g |
| | | | 1,0 „ intrap. | | | 2,0 „ | 12 „ | Miliartuberkulose, Milztumor, Degen. adip. hep. | |
| VIII | desgl. | 23 „ | | 13 „ | — | 0,25 mg | 68 „ | wenig ausgebreitete Lungentuberkulose, Nierentuberk., Milz normal | Gewichtszunahme 710 g |
| IX | desgl. | nicht angegangen | | 16 „ | Mikrosk.: Tuberkulose | | | | |
| X | desgl. | 21 Tage | | 62 „ | Leber-, Milz-, Lungentbk. | 0,25 „ | 17 „ | miliare Lungentbk., Milztumor | |
| | | | | | | 2,0 „ | 12 „ | miliare Lungentbk., Milztumor, Deg. adip. hepat. | |
| XI | desgl. | 21 „ | 2,0 „ subk. | 45 „ | desgl. | 0,25 „ | 20 „ | miliare Lungentbk., Milztumor | |
| | | | 2,0 „ intrap. | | | 0,25 „ | 21 „ | desgl. | |
| XII | desgl. | 23 „ | | 5 „ | — | 0,25 „ | 15 „ | desgl. | Gewichtsverlust 420 g |
| XIII | desgl. | 23 „ | | 4 „ | — | 0,25 „ | 46 „ | starke Lungentbk., Nierentbk., Milz normal | „ 520 g |
| | | | | | | 2,0 „ | 71 „ | starke Lungen-, Nieren- u. Lebertbk. | „ 115 g |
| XIV | desgl. | 20 „ | | 10 „ | — | 0,25 „ | 35 „ | desgl. | „ 350 g |
| XV | desgl. | 24 „ | | 13 „ | — | 0,25 „ | 26 „ | Lungen, Milz etwas vergrößert | „ 100 g |
| | | | | | | 2,0 „ | 54 „ | Lungen-, Nierentbk., Milz normal | „ 600 g |
| | | | | | | 0,25 „ [1] | 26 „ | Lungentbk., Milz etwas vergrößert | Gewichtszunahme 70 g |
| | | | | | | 2,0 „ [1] | 56 „ | Lungen-, Nieren-, Leber-, Darmtbk., Milz normal | Gewichtsverlust 50 g |

1) Meerschweinchen-Passage-Kultur.

| No. | Kultur: Herkunft | Kultur: Entwickelung | Meerschweinchen: Geimpfte Menge des verkästen Materials | Meerschweinchen: Tod nach | Meerschweinchen: Patholog. Befund | Kaninchen: Geimpfte Menge der Reinkultur | Kaninchen: Tod nach | Kaninchen: Pathologischer Befund | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| XVI | Lymphadenitis tbc. | 25 Tage | 2,0 ccm subk. | 29 Tagen | Leber-, Milz-tuberkulose | 0,25 mg | 19 Tag. | Miliare Lungentuberkulose | |
| XVII | Arthritis tbc. cubiti | 36 „ | 4,0 „ „ | 120 „ | Leber-, Milz-, Lungentbk. | 0,25 „ | 50 „ | Lungen-, Nierentuberkulose, Milz normal | |
| XVIII | Gonitis tbc. | 73 „ | 4,0 „ „ | 99 „ | desgl. | 0,25 „ | 45 „ | desgl. | |
| XIX | Caries | Coli-Infektion | 2,0 „ „ | 23 „ | Leber-, Milz-tuberkulose | | | | |
| XX | Coxitis | 27 Tage | 5,0 „ „ | 53 „ | Leber-, Milz-, Lungentbk. | 0,25 „ | 45 „ | Lungen- u. Nierentuberkulose, Milz etwas größer | Gewichtszunahme 100 g |
| XXI | Abscessus frigid. cruris | 23 „ | 4,0 „ „ | 8 „ | — | 0,25 „ | 120 „ | wenig verbreitete Lungen- und Hodentuberkulose, Milz normal | „ 340 g |
| | | | | | | 2,0 „ | 18 „ | starke miliare Lungentbk., Fettleber, Milztumor | |
| XXII | desgl. | 25 „ | 3,0 „ „<br>1,0 „ intrap. | 61 „ | Leber-, Milz-, Lungentbk. | 0,25 „ | 20 „ | miliare Lungentuberkulose | |
| XXIII | Lymphadenitis tbc. | 23 „ | 2,0 „ subk. | 10 „ | — | 0,25 „ | 33 „ | Lungen-, Nierentuberkul., Milz etwas vergrößert | Gewichtsabnahme 500 g |
| XXIV | desgl. | Infektion | 2,0 „ intrap. | | | | | | |
| XXV | Spina ventosa | | | 41 „ | Leber-, Milz-, Lungentbk. | 0,25 „ | 28 „ | verbreitete miliare Lungentuberkulose, Milztumor | Gewichtsabnahme 200 g |
| XXVI | Lymphadenitis coli | 24 Tage | | 75 „ | desgl. | | | | |
| XXVII | desgl. | 24 „ | | | | | | | |
| XXVIII | desgl. | 23 „ | | | | 0,25 „ | 48 „ | verbreitete Lungen-, Nierentbk., Milz normal | |
| XXIX | desgl. | 40 „ | | | | | | | |
| XXX | Lymphadenitis macrocellul. | 29 „ | 2,0 ccm subk.<br>3,0 „ intrap. | 56 „ | Leber-, Milz-, Lungentbk. | | | | |
| | | | 1.0 „ subk.<br>2,0 „ intrap. | 45 „ | desgl. | 0,25 „ | 45 „ | wenig verbreitete Lungentuberkulose, Milz normal | Gewichtsabnahme 360 g |

Organismus eingeführte Jodoform die Virulenz der Tuberkelbacillen resp. den Verlauf der Tuberkulose nicht beeinträchtigt.

Unter den erwähnten 30 Fällen chirurgischer Tuberkulose gelang es uns nun 26mal, d. h. in 86 Proz. der Fälle, den Tuberkelbacillus rein zu züchten und zwar 15mal aus Lymphadenitis tuberculosa, 9mal aus Arthritis resp. Ostitis tuberculosa (und zwar Coxitis, Gonitis, Spina ventosa) und 2mal aus Tendovaginitis tuberculosa. In 2 Fällen von Lymphadenitis (VI, XXIV) und in einem Falle von Rippenkaries (XIX) fanden sich außer den Tuberkelbacillen auch andere Mikroorganismen und zwar in einem Falle von Lymphadenitis tuberculosa (VI) Staphylokokken und in je einem Falle von Lymphadenitis tuberculosa (XXIV) und Caries (XIX) ein in die Coli-Gruppe gehöriger Bacillus, welche derart rasch wucherten, daß sie den langsam wachsenden Tuberkelbacillus erdrückten. Bloß in einem Falle von Lymphadenitis tuberculosa (IX) fand auf der Kartoffel überhaupt kein Wachstum statt, trotzdem die Tuberkulosenatur der Erkrankung durch das Tierexperiment außer Zweifel festgestellt wurde. Allem nach wurde hier zu wenig verimpft.

Entsprechend der äußerst geringen Zahl der Tuberkelbacillen, welche in dem zur Impfung verwendeten Material enthalten waren — zuweilen konnten in den nach Ziehl-Neelsen gefärbten Deckglastrockenpräparaten überhaupt keine Tuberkelbacillen nachgewiesen werden — war auch die Zahl der Kolonieen auf den Kartoffeln meist eine beschränkte. So entwickelten sich z. B. im Laufe von 2—3 Monaten im Coxitisfalle I 3 Kolonieen, im Tendovaginitisfalle IV bloß 2 Kolonieen, im Ostitisfalle XXII 5 Kolonieen, im Lymphadenitisfalle XXX 7 Kolonieen, während in den Deckglaspräparaten dieser Fälle bloß hie und da, doch meist gar keine Tuberkelbacillen zu finden waren. In Anbetracht dessen, daß diese Kolonieen ganz isoliert wuchsen, muß angenommen werden, daß in diesen Fällen bloß vereinzelte, d. h. 1, 2, 5, 7 lebenskräftige Tuberkelbacillen auf der Kartoffel haften blieben und durch Vermehrung je eine Kolonie bildeten.

Diese Tatsache dürfte auch in praktischer Hinsicht ein größeres Interesse beanspruchen. Wie oft kommt es nämlich vor, daß in irgend einem auf Tuberkulose verdächtigen Materiale, z. B. in einem pleuritischen Exsudate, in kalten Abscessen u. s. w., im Ausstrichpräparate überhaupt keine Tuberkelbacillen nachzuweisen sind. Was tut man in solchen Fällen für gewöhnlich? Man impft das betreffende Material in Dosen von 1—2 ccm Meerschweinchen intraperitoneal ein, wartet die üblichen 6 Wochen ab, tötet das Tier und stellt nun, je nachdem dasselbe tuberkulöse Veränderungen zeigt, die Diagnose auf Tuberkulose oder schließt dieselbe aus. Ohne dieser Methode, die ja in Fällen, wo es sich um Mischinfektion handelt, die einzig zum Ziele führende Methode zum Nachweis des Tuberkelbacillus ist, auch nur im geringsten zu Leibe gehen zu wollen, möchten wir bloß auf jene Vorzüge hinweisen, welche der Methode unserer direkten Züchtung auf Kartoffeln gegenüber der des Tierversuches zukommen. Impft man nämlich bloß $^1/_2$—1 ccm eines an Tuberkelbacillen armen Materials in Form einer Emulsion Meerschweinchen intraperitoneal, so kann es vorkommen, daß die vereinzelten Bacillen im Tierkörper entweder teilweise zu Grunde gehen oder sich derart langsam vermehren, daß die nach einigen Wochen getöteten Meerschweinchen entweder überhaupt keine oder minimale Veränderungen zeigen, so daß die Diagnose mittels des Tierexperimentes sehr erschwert sein kann oder ganz unmöglich ist. Impft man hin-

gegen einige Oesen dieses Materials auf Glycerinkartoffeln, so erhält man — vorausgesetzt, daß keine Mischinfektion vorhanden ist — sozusagen ausnahmslos einige deutliche Tuberkelbacillenkolonieen, die weiter abgeimpft werden können. Demgegenüber könnte man vielleicht einwenden, daß man ja das Meerschweinchen mit größeren Dosen der Emulsion, sagen wir mit 5—10 ccm, impfen könne und da müsse dann die Tuberkulose zum Ausbruch kommen. Dem entgegen können wir jedoch auf Grund einer sehr reichen Erfahrung anführen, daß Meerschweinchen größere Mengen eines käsigen Materials sehr schlecht vertragen und bei Injektion von 5 ccm desselben nach einigen Tagen, allem nach zufolge einer Intoxikation, eingehen. Zur Illustration des Angeführten sei vor allem erwähnt, daß beiläufig $^1/_3$ derjenigen Meerschweinchen, welche mit mehr als 1 ccm verkästen Materials chirurgischer Tuberkulose, in der Regel mit 2—5 ccm, intraperitoneal oder subkutan geimpft wurden, in den ersten 2 Wochen eingingen, während diejenigen Meerschweinchen, welche mit weniger, meist mit 1 ccm, infiziert wurden, Wochen hindurch am Leben blieben und bloß von der 5. Woche an allgemeine Tuberkulose erkennen ließen. Weiterhin sei hervorgehoben, daß 6 derjenigen Meerschweinchen, welche mit je 1 ccm Emulsion von verkästen Lymphdrüsen intraperitoneal geimpft wurden, nach 3—6 Wochen minimale oder selbst gar keine tuberkulösen Veränderungen erkennen ließen, trotzdem die aus den Lymphknoten direkt angelegte Kartoffelkultur nach 3 Wochen wohlentwickelte vereinzelte Tuberkelbacillenkolonieen erkennen ließ. Insbesondere lehrreich ist auch ein Fall, wo das mit 1 ccm subkutan geimpfte Meerschweinchen am 39. Tage getötet, bei der Sektion vollkommen normal gefunden wurde und bloß an der Injektionsstelle ein linsengroßes Knötchen verkästen Gewebes mit einigen degenerierten Tuberkelbacillen gefunden wurde; desgleichen zeigte ein mit 1 ccm verkäster Lymphdrüsenemulsion geimpftes Meerschweinchen am 31. Tage bloß eine linsengroße Inguinaldrüse, während die inneren Organe vollkommen frei von Tuberkulose waren und ein mit gleichem Materiale geimpftes Meerschweinchen wurde nach 25 Tagen vollkommen normal befunden; während nun in dem verkästen Material der menschlichen Lymphadenitis, mit welchem dieses letztere Meerschweinchen geimpft wurde, keine Bacillen nachzuweisen waren, fanden sich in dem linsengroßen verkästen Knötchen, welches am 25. Tage nach der Impfung an der Injektionsstelle des Meerschweinchens anzutreffen war, einige Tuberkelbacillen, welche sowohl in Deckglaspräparaten mittels der spezifischen Färbung nachzuweisen waren als auch reingezüchtet wurden, indem sich auf der Glycerinkartoffel am 29. Tage Kolonieen typischer Tuberkelbacillen entwickelten. Trotzdem wir über diesbezügliche systematische Untersuchungen nicht verfügen, können wir doch schon auf Grund der uns zur Verfügung stehenden Daten mit Bestimmtheit sagen, daß es Fälle gibt, wo das Tierexperiment bei der Diagnose im Stiche läßt und die Tuberkulose ausgeschlossen wird, trotzdem es möglich wäre, die Tuberkulose mittels des Züchtungsverfahrens auf Glycerinkartoffeln nachzuweisen. Nochmals sei betont, daß letzteres nur dann in Betracht gezogen werden kann, wenn es sich nicht um Mischinfektion handelt, und daß dieses Verfahren den großen Vorteil besitzt, daß die Glycerinkartoffel einen vorzüglichen Nährboden bildet und auf ihr auch ganz vereinzelte Tuberkelbacillen gedeihen und nachzuweisen sind; demgegenüber schützt sich der Tierkörper mit Hilfe dessen Säften gegen die Tuberkelbacillen und tötet dieselben, wenn sie in geringer

Zahl eingeführt werden, ab — sonst müßte ja jeder Mensch an Tuberkulose sterben. Ohne, wie erwähnt, den Wert des Tierexperimentes auch nur im geringsten unterschätzen zu wollen, möchten wir doch in Fällen, wo Mischinfektion ausgeschlossen werden kann und bloß vereinzelte Tuberkelbacillen vorhanden sind — zwecks Züchtung — und in Fällen, wo Tuberkelbacillen tinktoriell nicht nachzuweisen sind und doch Verdacht auf Tuberkulose besteht — zwecks Diagnose — neben dem Tierexperiment auch das direkte Züchtungsverfahren auf Glycerinkartoffel aufs wärmste empfehlen, da ja, wie hervorgehoben, die Tuberkulose in gewissen Fällen bloß mit Hilfe dieses Verfahrens in 3–4 Wochen sicher nachzuweisen ist.

Auf der Glycerinkartoffel sind die Tuberkelbacillenkolonieen meist um den 23. Tag herum mit freiem Auge erkennbar. So konnten wir die Tuberkelbacillenkolonieen 7mal am 23., 6mal am 24., 4mal am 20., je 2mal am 21. und 25. und je 1mal am 26., 27., 29., 36., 40., 73. Tage mit freiem Auge erkennen. Auf Glycerinagar direkt aus dem Tierkörper verimpfte Tuberkelbacillen gehen nie an; trotzdem wir — um uns über eventuelle Mischinfektion zu orientieren — in jedem Falle auch Glycerinagarkulturen anlegten, konnten wir doch selbst nach Monaten kein Wachstum der Tuberkelbacillen beobachten. Demgegenüber waren die einmal auf Glycerinkartoffeln angegangenen Tuberkelbacillen ohne Schwierigkeit auf Glycerinagar weiter zu züchten.

Bezüglich der Morphologie der Tuberkelbacillenkolonieen könnten wir bloß bereits Bekanntes angeben, indem wir auch die harten, trockenen, schwer zerreibbaren Auflagerungen beobachteten. Etwas näher sei auf die Farbe der Tuberkelbacillenkolonieen eingegangen. Während die Kolonieen zumeist weißlich gefärbt waren, fanden wir doch oft auch gelbe, rötlichgelbe, rote, ja selbst schwärzliche Kolonieen. Diese Befunde sind an und für sich nicht neu. Schon Hueppe beschrieb Kulturen, die eine intensive gelbe bis rotgelbe Farbe zeigten. Desgleichen beobachteten auch Lehmann und Neumann einmal eine orangerote Verfärbung der Kultur. Auch Fleischmann fand bei seinen im hiesigen anatomisch-pathologischen Institute No. II angestellten Untersuchungen sowohl gelbe als auch rötliche und schmutzig braun verfärbte Kulturen und erwähnt die interessante Tatsache, daß Tuberkelbacillenkulturen, die auf Glycerinkartoffeln 10 Generationen hindurch weiß waren, in der 11. Kultur neben gelben auch rote Kolonieen bildeten, während die Kulturen der 12. Generation wieder weiß und die der 13. Generation wieder rot waren. Die seither bis zur 20. Generation weiter gezüchteten Kulturen sind insgesamt weiß. Bezeugt schon dieser Umstand, daß es sich hierbei nicht um eine konstante Eigentümlichkeit der Kultur handelt, so spricht auch diejenige Beobachtung Fleischmanns, daß die rote Farbe einer Kultur, sobald letztere durch den Tierkörper geführt wurde und die Tuberkelbacillen wieder reingezüchtet wurden, wieder ins Weiße umschlug, dafür, daß die Farbenproduktion jedenfalls eine Anpassungseigenschaft des Tuberkelbacillus bildet und von irgend einer Eigentümlichkeit des Nährbodens abhängig ist. Aehnliche Farbenunterschiede der Tuberkelbacillenkulturen beobachteten auch wir ziemlich oft bei den Kartoffelkulturen. So trafen wir 7mal gelbe, 4mal rote Kulturen an. Da von jedem unserer Patienten 2 Kulturen angelegt waren, war es interessant, zu sehen, wie je eine Kultur dieser 11 Fälle weiß und je eine gelb oder rot gefärbt war. Auffallend war es, daß sich einige Kulturen, die anfangs weiß waren, nach 2—4 Monaten

immer dunkler färbten, bis sie endlich ganz braunschwarz wurden. Was mag wohl die Ursache all dieser Verfärbungen sein? Allem nach dürften Differenzen in der chemischen Zusammensetzung der verschiedenen Kartoffeln eine Rolle spielen. Interessant sind in dieser Hinsicht die Angaben derjenigen Autoren, welche die Fettsubstanzen der Tuberkelbacillen studierten; so gibt Klebs an, daß das in Aether lösliche Fett der Tuberkelbacillen von roter Farbe sei. Aronson erhielt durch Extraktion mit Aether und Alkohol eine gelblichbraune Substanz und Kresling extrahierte neuestens durch Aether ein Fett, welches eine gelborange Farbe besaß. Sollte vielleicht die Farbe der Kultur in irgend einer Beziehung zum Fettgehalt der Bacillen stehen? Erwähnenswert ist auch eine Angabe von Lubinski, wonach auf saurem Agar kultivierte Tuberkelbacillen in den ersten Tagen eine gelblichbräunliche Pigmentation zeigen. Allenfalls wäre auch daran zu denken, daß auch die braune bis schwarze Farbe unserer 2—4 Monate alten Kulturen vom wechselnden Säuregehalt der Kartoffel abhängig sei. Doch auch an eine dritte Möglichkeit wäre zu denken. Da nach Bertran der farblose Saft des japanischen Lackmusbaumes durch Oxydation in den schwarzen japanischen Lack umgewandelt wird und da nach Neumann Nährböden nach Zusatz von Thyrosin durch Thyrosinase infolge Oxydation braun gefärbt werden: wäre auch daran zu denken, daß die Tuberkelbacillen aus den Nährböden Thyrosin bereiten und durch Oxydation braun bis schwarz verfärbt werden.

Haben wir nun die Reinkultivierung der Tuberkelbacillen aus dem menschlichen Körper besprochen und auf deren manche Vorzüge gegenüber dem Tierversuch hingewiesen, haben wir weiterhin den Einfluß der Menge des verimpften Materials auf den Verlauf der Meerschweinchentuberkulose und die Entwickelung und die Verfärbung der Reinkulturen besprochen, so erübrigt es nun, auf unsere Hauptfrage zu antworten, ob nämlich irgend welche Virulenzunterschiede zwischen den aus Lungentuberkulose und den aus chirurgischen Tuberkulosefällen reingezüchteten Bacillen für Kaninchen nachzuweisen sind. Die sich hierbei aufdrängende Frage bezüglich des differenten Verlaufes der Lungentuberkulose und der chirurgischen Tuberkulose soll erst im Anschluß hieran erörtert werden.

Bevor wir auf die Beantwortung der ersten Frage eingehen, erscheint es uns unerläßlich, vor allem diejenigen Momente zu besprechen, welche überhaupt in Frage kommen, sobald es heißt, die Virulenz eines Tuberkelbacillus für irgend ein Tier zu bestimmen.

Daß bei den auf künstlichen Nährböden Jahre hindurch gezüchteten und inzwischen nicht durch den Tierkörper geführten menschlichen Tuberkelbacillen tatsächlich eine ganz enorme Abschwächung der Virulenz stattfindet und demnach tatsächliche Virulenzunterschiede zwischen den außerhalb des Tierkörpers vorkommenden Tuberkelbacillen existieren können, das ist bereits mit Sicherheit nachgewiesen. Als erster wies darauf Löte hin, indem er fand, daß eine vorher sehr virulente Kultur menschlicher Tuberkelbacillen nach Jahre hindurch fortgesetzter Ueberimpfung auf künstliche Nährböden im Tierkörper bloß einzelne abgekapselte Tuberkel hervorrufe. Aehnliches beobachteten auch Courmont und Dor und eine noch stärkere Abschwächung fand der eine von uns (Krompecher) bei Tuberkelbacillen, welche vorher virulent waren und 6 Jahre hindurch auf künstlichen Nährböden kultiviert wurden. Selbe riefen in einer Menge von 1—2,5 ccm einer milchigen

Emulsion innerhalb 75—79 Tagen bei intraperitoneal oder subkutan geimpften Meerschweinchen überhaupt keine Veränderungen hervor und bei intravenös geimpften Kaninchen konnten bloß einige Riesenzellen ohne Verkäsung mikroskopisch nachgewiesen werden, welche jedoch nach 1—2 Monaten gänzlich verschwanden. Die inzwischen an Gewicht erheblich zugenommenen Tiere blieben vollkommen gesund.

Trotzdem sich unsere Untersuchungen auf eventuelle Virulenzunterschiede der innerhalb des menschlichen Körpers bei Tuberkulose vorkommenden Tuberkelbacillen beziehen, scheint es uns doch wichtig, darauf hingewiesen zu haben, daß erhebliche Virulenzunterschiede bei den menschlichen Tuberkelbacillen überhaupt vorkommen. Bei der Virulenzbestimmung dieser Jahre hindurch auf künstlichen Nährböden kultivierten Tuberkelbacillen wurde sowohl die Menge der verimpften Bacillen als auch die Zeit, innerhalb derer die pathologischen Veränderungen angetroffen wurden, und die pathologischen Veränderungen selbst stets berücksichtigt.

Und eine genaue Angabe und Berücksichtigung dieser drei Daten müssen wir auch von allen Autoren fordern, welche sich mit Virulenzbestimmungen speziell der Tuberkelbacillen befassen. Denn lassen wir auch nur einen dieser Faktoren, z. B. die Zeit, innerhalb deren die Tiere die angeblichen Veränderungen zeigen, außer acht, so verlieren wir den sicheren Boden und so kann es vorkommen, daß in solchen Fällen ein und dieselbe Kultur das eine Mal für virulent, das andere Mal für weniger virulent erklärt wird. Injizieren wir beispielsweise 2 gleich schweren Kaninchen je 2 mg ein und derselben Tuberkelbacillenkultur intravenös, so kann es vorkommen, daß das eine Tier am 25. Tage an lokaler Lungentuberkulose, das andere am 50. Tage an allgemeiner Tuberkulose eingeht. Halten wir nun in diesem Falle bei der Virulenzbestimmung bloß die Menge des verimpften Materials und die pathologischen Veränderungen vor Augen, so müßten wir in Anbetracht dessen, daß 2 mg bei dem einen Tiere lokale, bei dem anderen allgemeine Tuberkulose verursachten, dort eine schwächere Virulenz der Bacillen annehmen als hier. Ziehen wir hingegen auch die Zeit in Betracht, so werden wir die Erklärung dessen, daß die pathologischen Veränderungen so verschieden waren, darin finden, daß der Zeitraum von 25 Tagen zu kurz, der von 45 Tagen hingegen ausreichend zur Generalisierung der Tuberkulose war.

Dies alles dürfte selbstverständlich erscheinen und man dürfte sich darüber aufhalten können, so etwas Selbstverständliches erst eigens hervorzuheben und mit Beispielen zu illustrieren.

Und doch war dies unerläßlich, da, wie gleich gezeigt werden soll, es gerade Vagedes war, der bei seinen Untersuchungen bezüglich der Virulenz der aus den Lungen gezüchteten Bacillen im allgemeinen die Zeit, innerhalb derer die geimpften Tiere eingingen, ganz außer acht ließ und bloß die Menge und die pathologischen Veränderungen in Betracht zog.

Bevor wir jedoch auf die kritische Besprechung dieser bei der Virulenzbestimmung der menschlichen Tuberkelbacillen einzig in Betracht kommenden Arbeit von Vagedes näher eingehen, muß noch eines Momentes Erwähnung getan werden, welches bei der Tuberkulose eine nicht zu unterschätzende Rolle spielt und bei Virulenzbestimmungen ebenfalls berücksichtigt werden muß, und dies ist die individuelle Disposition der Tiere. Und wenn Vagedes sagen zu können

glaubt, „daß es eine individuelle Disposition der Kaninchen gegen die intravenöse Injektion von Tuberkelbacillen so gut wie gar nicht gibt“, so möchten wir dies doch nicht ohne weiteres unterschreiben, besonders seitdem wir die in der nachfolgenden Tabelle ersichtliche Beobachtung machten, woraus ersichtlich ist, wie durchaus verschieden schwere pathologische Veränderungen, 7 nahezu gleich schwere, mit den gleichen Mengen ein und derselben Emulsion von Tuberkelbacillen geimpfte Kaninchen erkennen ließen.

| No. | Verimpfte Menge | Geimpft | Eingegangen | Tage | Pathologische Veränderung |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 (166) | 0,5 mg | 19. IV. 1901 | 17. V. 1901 | 28 | Sehr zahlreiche Tuberkel in der Lunge. Milz stark vergrößert |
| 2 (194) | „ | „ | 26. VIII. 1901 | 120 | Sehr zahlreiche bis linsengroße verkäste Tuberkel in der Lunge, in den Nieren und einzelne in der Schleimhaut des Magens. Milz klein |
| 3 (109) | „ | „ | 20. VI. 1901 | 62 | Sehr wenige stecknadelkopfgroße Tuberkel in der Lunge. Milz, Niere, Leber makroskopisch normal |
| 4 (200) | „ | „ | 4. XI. 1901 | 195 | Sehr zahlreiche verkäste Tuberkel in der Lunge und wenige in den Nieren. Brustdrüsentuberkulose. Milz, Leber makroskopisch normal |
| 5 (162) | „ | „ | 8. V. 1901 | 19 | Sehr zahlreiche Tuberkel in der Lunge. Milz etwas vergrößert |
| 6 (154) | „ | „ | 4. XI. 1901 | 195 | Sehr zahlreiche verkäste Tuberkel in der Lunge und in den Nieren. Brustdrüsentuberkulose |
| 7 (134) | „ | „ | 18. V. 1901 | 30 | Zahlreiche Tuberkel in der Lunge. Milz stark vergrößert |

Denn während z. B. die Kaninchen 1, 5, 7 bereits nach 28, 19, 30 Tagen an ausgebreiteter miliarer Lungentuberkulose zu Grunde gingen, zeigte das Kaninchen 3 am 62. Tage bloß sehr wenige Lungenknötchen und die übrigen blieben mehrere Monate lang am Leben. Hier handelt es sich offenbar nicht bloß um eine verschiedene Toleranz der Kaninchen gegen die Tuberkulose der inneren Organe, auf welche selbst Vagedes hinweist, sondern allem nach um individuelle Disposition.

Ohne jedoch auf diese individuelle Disposition ein allzu großes Gewicht legen zu wollen, möchten wir bloß darauf hingewiesen haben, daß man außer der Menge der Bacillen und außer der Zeit, innerhalb deren sich die tuberkulösen Veränderungen im Tierkörper entwickelt haben, doch auch mit der individuellen Disposition bei Virulenzbestimmungen zu rechnen habe.

Aus alledem geht, wie wir glauben, zur Genüge hervor, daß man bei Bestimmung der Virulenz von Tuberkelbacillen mit großer Umsicht arbeiten muß und nicht gleich verschiedene Virulenz annehmen darf, sobald die gleiche Menge in gleicher Zeit nicht erheblich abweichende Veränderungen hervorruft. Man wird vielmehr in Anbetracht einer in-

dividuellen Disposition bloß dann verschiedene, sagen wir abgeschwächte Virulenz der Lymphdrüsentuberkelbacillen annehmen dürfen, wenn gleiche Mengen der aus zahlreichen Lymphdrüsen direkt reingezüchteten Tuberkelbacillen bei den damit geimpften Tieren innerhalb der gleichen Zeit erheblich geringere Tuberkulose hervorrufen als beispielsweise Tuberkelbacillen von Lungentuberkulose.

Nach alledem können wir nun daran gehen, nachzuprüfen, inwiefern Vagedes die hier erörterten Bedingungen berücksichtigte und inwiefern seine Schlußfolgerungen bezüglich der Virulenz der Tuberkulosebacillen einer Kritik stand halten.

Vor allem sei hier nochmals erwähnt, daß Vagedes bloß die Virulenz der Lungentuberkulosebacillen systematisch studierte und indem er die Tuberkelbacillen zum größten Teile direkt aus dem menschlichen Körper reinzüchtete und Kaninchen einimpfte, auch tatsächlich die Virulenz menschlicher Tuberkelbacillen für Kaninchen festzustellen suchte. Und hierin weicht seine Methode von der der übrigen Autoren ab, welche, wenn sie auch wie z. B. Veszprémi, ein größeres Material systematisch verarbeiteten, das vom Menschen stammende tuberkulöse Material Tieren, und zwar zumeist Meerschweinchen, einimpften, aus deren Kulturen Reinkulturen der Tuberkelbacillen anlegten, damit Tiere impften und aus den bei letzteren angetroffenen tuberkulösen Veränderungen auf die Virulenz der „menschlichen“ Tuberkelbacillen folgerten, wohingegen sie doch eigentlich die Virulenz der Tiertuberkulose, zumeist der Meerschweinchentuberkulose bestimmten. Doch auch Vagedes verfiel teilweise in diesen Fehler. So gibt er selbst an, die Kulturen XVI Pa, XX W, XXIX und XXX seien aus dem Tierkörper angelegt. Die Tuberkelbacillen der beiden ersteren stammen aus menschlicher Lungentuberkulose, passierten den Kaninchenkörper und wurden aus letzterem reingezüchtet; die der beiden letzteren stammen aus Perlsucht, passierten gleichfalls den Kaninchenkörper und wurden aus demselben reinkultiviert. Indem nun Vagedes die Virulenz der beiden ersteren Kulturen an Kaninchen prüfte, suchte er doch nicht die Virulenz der menschlichen Tuberkelbacillen festzustellen, sondern prüfte die Virulenz der Kaninchentuberkulosebacillen an anderen Kaninchen.

Sehr interessant und in gewisser Hinsicht sehr lehrreich und überzeugend ist der Umstand, daß sich gerade diese 4 durch den Kaninchenkörper geführten Kulturen für Kaninchen als besonders virulent erwiesen, was wieder darauf hinweist, daß die Virulenz der Tuberkelbacillen für Kaninchen durch Kaninchenpassage gesteigert wird.

Vagedes scheint diese aus seinen eigenen Untersuchungen sich ergebende Tatsache übersehen zu haben, erwähnt sie wenigstens nirgends, betrachtet vielmehr diese 4 Passagekulturen als gleichwertig mit den übrigen 26 Kulturen und handelt auch die Versuchsergebnisse resp. die Virulenzwerte all dieser 30 Kulturen promiscue ab.

Nach Vagedes kann man die miteinander verglichenen Tuberkelstämme ihrer Virulenz nach in folgende 3 Klassen einteilen:

„Der I. Klasse würden die Kulturen angehören, welche, in einer Menge von $^1/_8$—$^1/_4$ mg in die Blutbahn von Kaninchen gebracht, bei diesen in einem 1—2 Monate umfassenden Zeitraum zu allgemeiner Miliartuberkulose führen.

Tuberkulose W (34 und 35), Perlsucht I (36 und 37), Tuberkulose M

(38 und 39), Tuberkulose Pa (49 und 50), Perlsucht II (53 und 54), Tuberkulose Fu (57 und 58).

Die II. Klasse mittlerer Virulenz umfaßt diejenigen, welche, in einer Menge von $^1/_4$ mg injiziert, zwar zahlreiche Knoten in den Lungen, aber nicht in den übrigen inneren Organen verursachen, oder die zu 5—10 mg in die Blutbahn gebracht, eine allgemeine Miliartuberkulose verursachen.

Zur III. Klasse endlich rechnen die Stämme, von denen $^1/_4$ mg nur zu spärlicher Knotenbildung in den Lungen, oder eine größere Menge — bis 10 mg — zu reichlicher Knotenbildung, aber nur in den Lungen, Veranlassung gibt."

Wie ersichtlich, werden die 4 Kulturen Tuberkulose W, Tuberkulose Pa und die beiden Perlsuchtkulturen zu den virulentesten gerechnet und außer diesen 4 finden sich nur 2 andere gleich virulente Kulturen. Sucht man weiterhin in der beigegebenen Tabelle die in Paranthese gesetzten Zahlen 34—37, 49, 50, 53, 54 heraus, so überzeugt man sich, daß tatsächlich die aus dem Kaninchenkörper reingezüchteten Kulturen bei Kaninchen die schwersten tuberkulösen Erscheinungen hervorriefen und deshalb als am virulentesten bezeichnet werden.

Und gerade dieser Umstand, daß, wie in den Versuchen von Vagedes nachgewiesen ist, die menschlichen Tuberkelbacillen nach Passage des Kaninchenkörpers für Kaninchen am virulentesten erscheinen, beweist schon an und für sich, was wir eben auch bei den Versuchen von Vagedes beanstanden, daß nämlich durch den Tierkörper, hier durch den Kaninchenkörper, geführte menschliche Tuberkelbacillen nicht mehr ihre ursprüngliche bei dem Menschen anzutreffende Virulenz für Kaninchen besitzen, sondern ihre Virulenz für dasselbe Tier, d. h. für das Kaninchen, durch die Passage gesteigert wurde, und beweist an und für sich, wie ungeeignet in dieser Hinsicht die Versuchsanordnung und wie anfechtbar schon in dieser Richtung die Schlußfolgerungen von Vagedes sind.

Aus alledem geht hervor, daß wir 1) vorläufig nicht berechtigt sind, direkt aus dem menschlichen Körper reingezüchtete und nach Passage durch den Tierkörper geleitete menschliche Tuberkelbacillen hinsichtlich der Virulenz als gleichwertig zu betrachten, da ja die Virulenz des Tuberkelpilzes, wie eben aus den Versuchen von Vagedes ersichtlich, ebenso wie anderer Bakterien, z. B. des Schweinerotlaufbacillus oder des Streptococcus, nach Passage eines Tieres für dieses Tier gesteigert und zugleich für andere Tiere vermindert wird; eben deshalb ist es aber auch 2) nicht gestattet, aus den Veränderungen, welche diese aus verschiedenen Tierkörpern gezüchteten Bacillen bei Kaninchen hervorrufen, eine Virulenzskala aufzustellen resp. auf deren Virulenz für gewisse Tiere zu folgern.

Ist schon Vagedes dadurch, daß er diese 4 Passagekulturen als gleichwertig mit den übrigen direkt aus dem menschlichen Körper gewonnenen Kulturen betrachtet, zu anfechtbaren Schlußfolgerungen gelangt, so verfiel er in einen noch größeren Fehler, als er bei Beurteilung seiner, im übrigen richtig durchgeführten Versuchsreihe resp. bei der Bestimmung des Virulenzgrades der einzelnen Tuberkelstämme bloß die verimpfte Menge der Reinkultur und den Grad der tuberkulösen Veränderungen im Tierkörper berücksichtigte, hingegen den wichtigen Faktor der Zeit, innerhalb welcher diese Veränderungen zustande

kommen, sozusagen gänzlich außer acht ließ. Während er z. B. bei seiner oben zitierten I. Klasse angibt, daß dieser Kulturen angehören würden, welche, in einer Menge von $^1/_8$—$^1/_4$ mg in die Blutbahn von Kaninchen gebracht, in 1—2 Monaten zu allgemeiner Miliartuberkulose führen, und somit hier auch die Zeit berücksichtigt, beurteilt er bei der II. und III. Klasse die Virulenz bloß nach der Menge der eingeführten Kultur und nach den hierdurch hervorgerufenen tuberkulösen Veränderungen und läßt die Zeit ganz außer acht, indem er angibt, daß zur II. Klasse mittlerer Virulenz diejenigen Stämme gehören, „welche, in einer Menge von $^1/_4$ mg injiziert, zwar zahlreiche Knoten in den Lungen, aber nicht in den übrigen inneren Organen verursachen, oder die zu 5—10 mg in die Blutbahn gebracht, eine allgemeine Miliartuberkulose verursachen" und daß zur III. Klasse diejenigen Stämme zu rechnen seien, „von denen $^1/_4$ mg nur zu spärlicher Knotenbildung in den Lungen, oder eine größere Menge — bis 10 mg — zu reichlicher Knotenbildung, aber nur in den Lungen, Veranlassung gibt".

Kann es nun bei einer derartigen Formulierung der Virulenzgrade nicht tatsächlich vorkommen, daß ein und derselbe Stamm das eine Mal der einen, das andere Mal der anderen Klasse zugerechnet wird? Kann es z. B. nicht vorkommen, daß auf Grund dieser Formulierung ein Stamm in die III. Klasse gerechnet wird, indem ein mit 5 mg intravenös geimpftes Tier — nach 25 Tagen — an lokaler Lungentuberkulose eingeht, während derselbe Stamm der Virulenz nach in die II. Klasse gerechnet werden muß, sobald das mit der gleichen Menge geimpfte Tier — nach 50 Tagen — an allgemeiner Tuberkulose eingeht? Und woher weiß denn Vagedes, ob z. B. die Stämme 19—22, welche in Dosen von 5—10 mg bei den Tieren am 19.—32. Tage bloß lokale Lungentuberkulose verursachten und deshalb in die III. Klasse gerechnet werden, nach 6—8 Wochen in gleichen Mengen nicht allgemeine Tuberkulose verursacht hätten und so der II. Klasse angerechnet werden müßten? Vagedes selbst erklärt ja z. B. seinen Stamm XXIV (No. 55 und 56 der Liste) das eine Mal (No. 56, siehe die in Parenthese gesetzten Angaben bei der II. Klasse p. 294 oben 4. Zeile) als in die II. Klasse gehörig, das andere Mal (No. 55) in die III. Klasse gehörig, da er das eine Mal in Dosen von 10 mg sehr starke allgemeine Tuberkulose hervorrief (und zwar in 25 Tagen), das andere Mal in Gaben von $^1/_4$ mg nach 24 Tagen bloß lokale Lungentuberkulose verursachte. Wer kann es sagen, ob letztere Gabe von $^1/_4$ mg nach längerer Zeit nicht auch allgemeine Tuberkulose hervorgerufen hätte und dies im Falle von Vagedes nicht bloß wegen Mangel an Zeit ausblieb.

Wie immer man auch die Sache nimmt, so viel steht fest, daß Vagedes der Zeit nicht genügend Rechnung trug und so das Werk seiner Klassifikation von selbst zusammenbricht

Hätte Vagedes vor allem auf den Verlauf der Tuberkulose bei Kaninchen im allgemeinen mehr geachtet, so hätte es ihm auffallen müssen, daß im großen und ganzen eine gewisse Zeit vergeht, bevor sich die Tuberkulose im Körper generalisiert und wir mit freiem Auge Tuberkel in den parenchymatösen Organen, namentlich in den Nieren, seltener in der Leber, Darm u. s. w. auffinden.

Bevor wir nun auf die Schilderung unserer eigenen Versuchsresultate eingehen, erscheint es uns angezeigt, die im übrigen richtig durchgeführten Versuchsergebnisse von Vagedes auch mit Berücksichtigung

der Zeit zu ordnen, um dann dies so übersichtlich geordnete Material von Lungentuberkulose mit unserem von chirurgischer Tuberkulose stammenden Materiale vergleichen zu können. Natürlich müssen vorerst die oben geschilderten 4 Passagekulturen ausgemerzt werden. Ebenso können wir auch diejenigen Fälle von Vagedes weglassen, wobei $^1/_8$ mg intravenös injiziert wurde, da bloß 3 dieser als am meisten virulent befundenen Passagekulturen in Dosen von $^1/_8$ mg und zwar No. 37, 50, 54 nach 24, 58, 19 Tagen allgemeine Tuberkulose verursachten, alle übrigen direkt aus dem Menschen gezüchteten Stämme (41, 43, 45, 47, 52) hingegen selbst nach 54, 87, 89 Tagen kein einziges Mal allgemeine Tuberkulose verursachten und so die diesbezüglichen Versuchsergebnisse von Vagedes mit den unsrigen Ergebnissen, welche sich eben in Anbetracht dieses Umstandes auf größere Dosen beziehen, nicht verglichen werden können.

Folgende 6 Tabellen veranschaulichen nun das nach Menge, Zeit und tuberkulösen Veränderungen geordnete Lungentuberkulosematerial von Vagedes und enthalten auch eine Rubrik, wo angegeben ist, in welche der 3 Virulenzklassen dieser Autor selbst seine Fälle unterbringt.

I V.

| No. | Menge | Zeit | Pathologische Veränderung | Klassifizierung nach Vagedes |
|---|---|---|---|---|
| 40 | $^1/_4$ mg | 54 Tage | Lokale Lungentuberkulose | III. Klasse |
| 42 | „ | 24 „ | | III. „ |
| 46 | „ | 87 „ | | III. „ |
| 48 | „ | 87 „ | | III. „ |
| 51 | „ | 38 „ | | II. „ |
| 55 | „ | 24 „ | | III. „ |
| 59 | „ | 31 „ | | II. „ |
| 61 | „ | 48 „ | | III. „ |
| 63 | „ | 21 „ | | III. „ |
| 65 | „ | 35 „ | | II. „ |
| 66 | „ | 35 „ | | II. „ |

II V.

| No. | Menge | Zeit | Pathologische Veränderung | Klassifizierung nach Vagedes |
|---|---|---|---|---|
| 38 | $^1/_4$ mg | 50 Tage | Allgemeine Tuberkulose | I. Klasse |
| 57 | „ | 27 „ | | I. „ |

III V.

| No. | Menge | Zeit | Pathologische Veränderung | Klassifizierung nach Vagedes |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 mg | 27 Tage | Lokale Lungentuberkulose | III. Klasse |
| 7 | 10 „ | 26 „ | | „ |
| 8 | 5 „ | 39 „ | | „ |
| 13 | 10 „ | 14 „ | | „ |
| 19 | 10 „ | 28 „ | | „ |
| 20 | 10 „ | 28 „ | | „ |
| 21 | 10 „ | 19 „ | | „ |
| 22 | 5 „ | 32 „ | | „ |
| 25 | 10 „ | 34 „ | | „ |
| 29 | 10 „ | 37 „ | | „ |
| | | | | „ |

IV V.

| No. | Menge | Zeit | Pathologische Veränderung | Klassifizierung nach Vagedes |
|---|---|---|---|---|
| 64 | 5 mg | 37 Tage | Allgemeine Tuberkulose | III. Klasse |

V V.

| No. | Menge | Zeit | Pathologische Veränderung | Klassifizierung nach Vagedes |
|---|---|---|---|---|
| 3 | 10 mg | 16 Tage | Allgemeine Tuberkulose | II. Klasse |
| 4 | 5 „ | 24 „ | | „ |
| 11 | 10 „ | 16 „ | | „ |
| 15 | 10 „ | 25 „ | | „ |
| 17 | 10 „ | 18 „ | | „ |
| 23 | 10 „ | 19 „ | | „ |
| 60 | 5 „ | 17 „ | | „ |
| 62 | 5 „ | 21 „ | | „ |

VI V.

| No. | Menge | Zeit | Pathologische Veränderung | Klassifizierung nach Vagedes |
|---|---|---|---|---|
| 2 | 5 mg | 60 Tage | Lokale Lungentuberkulose | III. Klasse |
| 14 | 5 „ | 66 „ | | „ |
| 26 | 5 „ | 48 „ | | „ |
| 27 | 10 „ | 42 „ | | „ |
| 28 | 5 „ | 43 „ | | „ |
| 30 | 5 „ | 48 „ | | „ |
| 31 | 10 „ | 43 „ | | „ |
| 32 | 5 „ | 43 „ | | „ |
| 48 | 5 „ | 87 „ | | „ |

Um den Vergleich dieser Vagedesschen Tabellen mit den unsrigen zu ermöglichen, geben wir im folgenden gleich auch unsere nach den gleichen Gesichtspunkten geordneten Tabellen, welche jedoch auch eine Rubrik für die Angabe der Herkunft der Kultur enthalten.

I. K.-Z.

| No. | Herkunft | Menge | Zeit | Pathologische Veränderung |
|---|---|---|---|---|
| II | Lymphadenitis | $^1/_4$ mg | 16 Tage | Lokale Lungentuberkulose |
| III | „ | „ | 17 „ | |
| VII | „ | „ | 35 „ | |
| X | „ | „ | 17 „ | |
| XI | „ | „ | 20 „ | |
| XI | „ | „ | 21 „ | |
| XII | „ | „ | 15 „ | |
| XV | „ | „ | 26 „ | |
| XV | „ | „ | 26 „ | |
| XVI | „ | „ | 19 „ | |
| IV | Tendovaginitis | „ | 20 „ | |
| V | „ | „ | 21 „ | |
| XXII | Knochen | „ | 20 „ | |
| XXV | „ | „ | 28 „ | |

II. K.-Z.

| No. | Herkunft | Menge | Zeit | Pathologische Veränderung |
|---|---|---|---|---|
| XXIII | Lymphadenitis | 1/4 mg | 33 Tage | Allgemeine Tuberkulose |
| VIII | " | " | 68 " | |
| XIII | " | " | 46 " | |
| XIV | " | " | 35 " | |
| XXVIII | " | " | 48 " | |
| V | Tendovaginitis | " | 60 " | |
| XVII | Knochen | " | 50 " | |
| XX | " | " | 45 " | |
| XXI | " | " | 120 " | |
| XVIII | " | " | 45 " | |

III. K.-Z.

| No. | Herkunft | Menge | Zeit | Pathologische Veränderung |
|---|---|---|---|---|
| II | Lymphadenitis | 2 mg | 35 Tage | Lokale Lungentuberkulose |
| III | " | " | 16 " | |
| VII | " | " | 12 " | |
| X | " | " | 12 " | |
| IV | Tendovaginitis | " | 14 " | |
| XXI | Knochen | " | 18 " | |

IV. K.-Z.

| No. | Herkunft | Menge | Zeit | Pathologische Veränderung |
|---|---|---|---|---|
| XIII | Lymphadenitis | 2 mg | 71 Tage | Allgemeine Tuberkulose |
| XV | " | " | 54 " | |
| XV | " | " | 56 " | |

Vergleicht man nun die in den Tabellen I—VI V geordneten Resultate, welche Vagedes mit Tuberkelbacillen menschlicher Lungentuberkulose erhielt, mit den in den Tabellen I. K.-Z.—IV. K.-Z. zusammengestellten Ergebnissen menschlicher chirurgischer Tuberkulose und zieht man auch die schon vorher besprochene individuelle Disposition der Kaninchen in Betracht, so findet man eine gute Uebereinstimmung beider Versuchsergebnisse.

Auf Grund dieser Konfrontierung kann im allgemeinen gesagt werden, daß sowohl 1/4 mg als auch 10—40mal größere Gaben, d. h. 2—10 mg reiner Tuberkelbacillen im allgemeinen bis zur 5.—7. Woche bloß lokale Lungentuberkulose hervorrufen (siehe Tabellen I V, III V, VI V, I. K.-Z., III. K.-Z.), nach dieser Zeit hingegen in der überwiegenden Mehrzahl allgemeine generalisierte Tuberkulose erzeugen (siehe Tabellen II V, IV V, II. K.-Z., IV. K.-Z.) In unseren Tabellen läßt sich sogar bei dieser Dosierung mit fast mathematischer Genauigkeit der 33.—35. Tag als Grenze zwischen makroskopisch erkennbarer lokaler und allgemeiner Infektion aufstellen.

Auf Grund dieser Befunde können wir daher schon jetzt im allgemeinen behaupten, daß die Bacillen der menschlichen chirurgischen Tuberkulose, d. h. die aus Lymphadenitis, Coxitis, Gonitis, Absc. frig., Spina vent. tuberc. direkt reingezüchteten Tuberkelbacillen ebenso wie die aus Lungentuberkulose reingezüchteten Tuberkelbacillen für Kaninchen annähernd gleich virulent sind.

Hiermit haben wir nun aber auch die uns gestellte Frage beantwortet, namentlich sämtliche aus menschlicher Tuberkulose direkt reingezüchteten Tuberkelbacillen im allgemeinen für Kaninchen als gleich virulent erklärt.

Doch von dieser allgemeinen Regel finden sich in den Tabellen von Vagedes Ausnahmen, und die selbe veranschaulichenden Zahlen sind in den Tabellen fettgedruckt.

Da fällt vor allem auf Tabelle I V in die Augen, daß $^1/_4$ mg in 54 und 87 Tagen (No. 40, 46, 48) bloß lokale Tuberkulose verursachte und auf Tabelle II V ist ersichtlich, daß $^1/_4$ mg bereits in 27 Tagen allgemeine Tuberkulose hervorrief. Weiterhin zeigten die Tabellen V V und VI V von der allgemeinen Regel Abweichungen, indem auf Tab. V V Dosen von 5—10 mg bereits in 16—25 Tagen allgemeine Tuberkulose hervorriefen und auf Tabelle VI V nach Verabreichung von 5—10 mg innerhalb 60, 66, 87 Tagen bloß lokale Lungentuberkulose angetroffen wurde.

Daß $^1/_4$ mg in 54 resp. 58 Tagen keine allgemeine Tuberkulose hervorruft, wäre in Anbetracht dessen, daß noch kleinere Gaben, z. B. $^1/_8$—$^1/_{16}$ mg, oft selbst nach 2—3 Monaten keine allgemeine Tuberkulose hervorruft, eventuell dadurch zu erklären, daß die Kaninchen in diesen Fällen möglicherweise weniger als $^1/_4$ mg erhielten und größere Resistenz besaßen.

Befremdend ist jedoch, warum 5—10 mg einesteils nach 60, 66, 87 Tagen bloß lokale Lungentuberkulose, andererseits innerhalb 16—25 Tagen so oft (8mal) allgemeine Tuberkulose hervorriefen.

Woran dies liegt, können wir nicht angeben, doch bloß um zwei Möglichkeiten kann es sich hier handeln.

Einmal ist es möglich, daß diese Differenz durch die einigermaßen verschiedene Technik bedingt ist, zweitens kann daran gedacht werden, daß es sich tatsächlich um verschieden virulente Stämme handelt.

Bezüglich des ersten Punktes sei vor allem darauf hingewiesen, daß Vagedes als Nährboden glycerinhaltiges koaguliertes Blutserum, wir hingegen Glycerinkartoffeln benützten. Indem nun die Glycerinserumkolonieen nach Vagedes lange nicht das trockene, schuppenartige Aussehen darbieten, sondern bedeutend feuchter als Kartoffelkulturen erscheinen, ist daran zu denken, daß der Wassergehalt der Kulturen eine Differenz im Gewichte hervorrief und z. B. $^1/_4$ mg der feuchten Vagedesschen Kulturen weniger Bacillen enthielt, als $^1/_4$ mg unserer Kartoffelkulturen. Um das der Kultur anhaftende Wasser zu entfernen, durchquetschte zwar Vagedes die „teigige“ Substanz auf vorher sterilisiertem Fließpapier und wog erst dann die gewünschte Menge ab, doch trotzdem kann es keinem Zweifel unterliegen, daß Vagedes mit feuchteren Kulturen arbeitete, als wir und demnach bei ihm in einer gewissen Menge der Kultur weniger Bacillen enthalten waren als bei uns. Für diese Möglichkeit spricht auch der Umstand, daß $^2/_3$ unserer mit 2 mg geimpften Kaninchen schon innerhalb 3 Wochen an miliarer Tuberkulose und Pneumonie einging, während unter den Kaninchen, welche Vagedes mit doppelten bis 5-fachen Mengen, d. h. mit 5—10 mg impfte, bloß $^1/_4$ Teil innerhalb 3 Wochen einging. Nach alledem scheint Vagedes doch mit verhältnismäßig geringeren Mengen als wir gearbeitet zu haben.

Bezüglich des zweiten Punktes, daß die verschiedenen Nährböden, nämlich bei Vagedes das Glycerinserum, bei uns die Glycerinkartoffel, die Virulenz in irgend verschiedener Weise beeinträchtigt habe, sei

erwähnt, daß Sander tatsächlich fand, daß die auf Kartoffel gezüchteten Kulturen zweimal weniger virulent seien als die Glycerinagarkulturen.

Die hierauf bezüglichen vergleichenden Untersuchungen von Fleischmann, Praktikanten des pathol.-anatom. Institutes, sind noch nicht abgeschlossen, so daß wir uns hierüber noch kein sicheres Urteil bilden können.

Doch, sollte die Angabe Sanders zu Recht bestehen, daß die auf tierischen Nährböden gezüchteten Tuberkelbacillen wirklich virulenter sind, so hätten unsere auf pflanzlichen Nährböden gezüchteten Kulturen chirurgischer Tuberkelbacillen auch im allgemeinen, im Durchschnitt viel weniger virulent sein müssen, als diejenigen, welche Vagedes auf tierischen Nährböden aus Lungentuberkulose kultivierte. Dies ist jedoch, wie erwähnt, nicht der Fall.

Und so scheint gerade auch der Umstand, daß sich die Versuchsergebnisse von Vagedes mit den unserigen im großen und ganzen gut decken, gegen eine erhebliche Abweichung der Virulenz der auf Glycerinserum und Glycerinkartoffeln gezüchteten Tuberkelbacillen zu sprechen.

Außer diesen jedenfalls bestehenden Gewichts- und eventuell vorhandenen Virulenzunterschieden der beiden Versuchsreihen sei jedoch noch auf einen Umstand hingewiesen, der einigermaßen zum Verständnis der von Vagedes verzeichneten und auf Tabelle V V wiedergegebenen eigenartigen Befunde beitragen dürfte.

Bei sämtlichen Kaninchen nämlich, denen wir 2 mg intravenös einimpften, und welche, wie erwähnt, größtenteils innerhalb 20 Tagen an miliarer Lungentuberkulose und Pneumonie eingingen, fanden wir ausgesprochene parenchymatöse Degeneration resp. Verfettung der Leber, wohingegen diese Veränderungen bei den mit geringeren Mengen von Tuberkelbacillen geimpften Tieren vollständig fehlten. Wäre da nicht daran zu denken, daß das gleichzeitig mit den Tuberkelbacillen eingeführte Toxin ebenso wie die Leber auch die übrigen Organe, wenn auch nicht in einer makroskopisch erkennbaren Weise schädigt, gewissermaßen einen locus minoris resistentiae gegenüber den Bacillen schafft, die Vermehrung der Bacillen in dem so geschädigten Gewebe begünstigt und so in relativ kurzer Zeit zu allgemeiner Tuberkulose führt. Solche Fälle wären dann denjenigen Fällen menschlicher Tuberkulose an die Seite zu stellen, wo gewisse Erkrankungen, z. B. Stenose der Pulmonalis, oder Morbillipneumonie, die Ansiedelung und Entwickelung der Tuberkelbacillen begünstigen. Hier würde demnach gleichsam eine Art Intoxikation die Entwickelung der Tuberkulose befördern und die relativ frühzeitige Generalisierung der Tuberkulose bei Injektion größerer Dosen von Tuberkelbacillen erklären.

Wäre nun aber auch die rasche Generalisierung der Tuberkulose in den Versuchen von Vagedes durch diese Annahme dem Verständnis etwas näher gebracht, so blieben doch die Beobachtungen von Vagedes noch unerklärt, warum nämlich bei Injektion von Tuberkelbacillen die auf gleichen Nährböden kultiviert wurden und von denen gleiche Mengen injiziert wurden, so verschieden ausgebreitete tuberkulöse Veränderungen auftreten, warum nämlich bei Injektion von 5—10 mg Tuberkelbacillen, die stets auf Glycerinagar kultiviert wurden, das eine Mal innerhalb 2—3 Wochen (16—24 Tagen) allgemeine Tuberkulose (Tabelle V V) das andere Mal in 2—3 Monaten (42—87 Tagen) bloß lokale Lungentuberkulose auftrat (Tabelle VI V).

Haben wir nun gesehen, daß sich die Versuchsergebnisse von Vagedes mit den unserigen im großen und ganzen gut decken, was ja aber an und für sich gegen eine namhafte Beeinflussung der Untersuchungen durch die einigermaßen verschiedene Technik und durch die Differenz der Dosierung spricht und können so die Tuberkelbacillen der Lungentuberkulose und die der chirurgischen Tuberkulose im allgemeinen für Kaninchen als nahezu gleich virulent betrachtet werden, so lassen sich doch die von Vagedes bezeichneten und auf den Tabellen V V und VI V zusammengestellten Fälle bloß durch Annahme verschiedener Virulenz erklären.

Und würde an uns die Frage gestellt werden, welche Tuberkelbacillenstämme der Vagedesschen Versuchsreihe als am virulentesten zu bezeichnen seien, so müßten wir ohne weiteres die auf Tabelle V V verzeichneten und von Vagedes selbst als mittelvirulent zu der II. Klasse gerechneten Stämme als am virulentesten bezeichnen, da sie ja in gleichen Dosen innerhalb der kürzesten Zeit allgemeine Tuberkulose hervorriefen.

Vorderhand aber halten wir es vorzüglich auf Grund unserer eigenen Untersuchungen und in Anbetracht der im allgemeinen angetroffenen Uebereinstimmung derselben mit den Befunden von Vagedes am geeignetsten, von einer Klassifikation der menschlichen Tuberkelbacillen ihrer Virulenz nach gegenüber Kaninchen abzusehen, um so mehr als ja unsere Untersuchungen zeigen, daß die Virulenz der aus den verschiedenartigsten chirurgischen Tuberkuloseerkrankungen reingezüchteten Tuberkelbacillen für Kaninchen keine nachweisbaren Unterschiede erkennen lassen und die Vagedesschen Untersuchungen höchstens Virulenzunterschiede der einzelnen Stämme der Lungentuberkelbacillen erkennen lassen.

Wäre da nicht in Anbetracht dessen, daß wir unsere Tuberkelbacillen stets aus reinen tuberkulösen Affektionen züchteten und bei Lungentuberkulose sehr oft Mischinfektion mit Streptokokken etc. vorkommt, daran zu denken, daß diese Virulenzunterschiede speziell bei der Lungentuberkulose eventuell durch Mischinfektion, namentlich durch Streptokokken, bedingt sind?

Nach alledem fragt es sich nun, wie es kommt, daß die Lungentuberkulose und die chirurgische Tuberkulose sowie die einzelnen Arten der letzteren trotz annährend gleicher Virulenz ihrer Bacillen einen so verschiedenartigen klinischen Verlauf zeigen.

Zweifellos ist die Ursache dessen in der verschiedenen Disposition der einzelnen Organe resp. der verschiedenen Organe zu suchen.

Das tatsächlich die verschiedenen Gewebe allem nach infolge ihrer verschiedenen chemischen Konstitution auf Tuberkelbacillen verschieden reagieren, geht schon daraus hervor, daß z. B. bei menschlicher Miliartuberkulose die Haut, die Hirnsubstanz fast ausnahmslos frei von Tuberkulose bleibt und bei Generalisierung der Kaninchentuberkulose außer den Lungen zumeist die Nieren, weniger die Leber von makroskopisch erkennbarer Tuberkulose befallen sind. Ganz frei von Tuberkulose wurden bisher bei hämatogener Infektion von Kaninchen die Hoden und die Brustdrüsen befunden. Auch Baumgarten hebt hervor, daß es ihm nie gelang, durch intravenöse Infektion bei Kaninchen experimentelle Hodentuberkulose hervorzurufen. Um so interessanter erscheint es nun, daß wir bei unseren sehr zahlreichen intravenösen Injektionen von Tuberkelbacillen 1mal hämatogene Hoden, und 2mal hämatogene Brustdrüsentuberkulose beobachten, über welche Befunde der eine von uns (Krompecher) demnächst ausführlicher referieren wird.

Und eben diese verschiedenartige Disposition der einzelnen Organe erklärt es auch, weshalb bei den verschiedensten tuberkulösen Affektionen in den verschiedenen tuberkulösen Produkten die Zahl der Tuberkelbacillen so sehr wechselt. Denn während man z. B. bei Lungentuberkulose im Sputum durchschnittlich mehr oder weniger zahlreiche Tuberkelbacillen findet, vermißt man selbige bei Drüsentuberkulose, bei Knochentuberkulose, bei Lupus meist gänzlich. Jedenfalls finden die Tuberkelbacillen in diesen Organen nicht die geeigneten Wachstums- und Wucherungsbedingungen, und gehen, sobald sie sich mühselig entwickelt, alsbald unter dem Einflusse der hemmend wirkenden Säfte zu Grunde. Dies würde es nun verständlich machen, warum die Zahl der im übrigen gleich virulenten Tuberkelbacillen bei den verschiedenartigsten tuberkulösen Erkrankungen so sehr wechselt. Doch die geringe Zahl einerseits, die weniger wichtige Rolle der Lymphdrüsen und der Gelenke im Haushalte des Organismus andererseits dürften es zur Genüge erklären, weshalb der Verlauf der chirurgischen Tuberkulose im Gegensatze zu dem der Lungentuberkulose so günstig ist, doch ungünstig wird, sobald die virulenten Tuberkelbacillen der Lymphdrüsen in den allgemeinen Kreislauf oder bei Masernpneumonie in die entzündete Lunge gelangen und dort miliäre Tuberkulose, hier verkäsende Pneumonie verursachen.

Auf die Schilderung der histologischen Befunde sei hier nicht eingegangen. Unter den mikroskopischen Präparaten, welche von 140 Meerschweinchen und 47 Kaninchen stammen, finden sich in vieler Hinsicht besonders auf die Strahlenpilzformen bezüglich sehr wertvolle Präparate, über die an anderer Stelle berichtet werden soll.

Bezüglich der allgemeinen pathologischen Befunde sei hier bloß erwähnt, daß die tuberkulösen Kaninchen meist eine ganz erhebliche, bis 500 g betragende Gewichtsabnahme erkennen ließen, im ersten Monate einen meist sehr ausgesprochenen Milztumor zeigten, welcher jedoch im zweiten Monate, d. h. zu einer Zeit verschwand, wo sich die Tuberkulose generalisierte und zu welcher Zeit besonders in der Niere, weniger häufig in der Leber, makroskopisch erkennbare Tuberkel anzutreffen sind.

In klinischer Hinsicht endlich ist bemerkenswert, daß die intravenös geimpften Kaninchen von der zweiten Woche an eine Steigerung der Temperatur erkennen ließen, auf welche zuerst Löte hinwies und welche auch von Vagedes bestätigt wurde. Bemerkenswert ist hauptsächlich die Pünktlichkeit, mit welcher die Temperatursteigerung eintrat resp. ihren Höhepunkt erreichte; so ließen z. B. 4 Kaninchen, welche mit je $^1/_4$ mg Tuberkelbacillen intravenös geimpft wurden (II, III, IV, VII), vom Impfungstage an eine allmähliche Steigerung der Temperatur erkennen, welche bei allen 4 Kaninchen am 14. Tage ihren Höhepunkt d. h. 40,1, 41,3, 40,2, 40,3 erreichte. Bei einem mit 2 mg intravenös geimpften Kaninchen (II) erreichte die Temperatur am 18. Tage ihr Maximum von 40,7.

## Zusammenfassung.

1) In Anbetracht dessen, daß die Autoren, welche systematisch die Virulenz der bei den verschiedenartigsten tuberkulösen Erkrankungen des Menschen anzutreffenden Tuberkelbacillen studierten, das aus dem menschlichen Körper entnommene tuberkulöse Material vorerst in den Tierkörper impften, aus demselben den Tuberkelbacillus reinzüchteten und die Virulenz dieser Passagekulturen an Tieren prüften: sind sämtliche

bisher angestellten systematischen Virulenzbestimmungen anfechtbar, da ja stets die Virulenz der Tiertuberkulosebacillen und nicht die der menschlichen Tuberkelbacillen bestimmt wurden.

2) Eine Ausnahme hiervon bilden bloß die Untersuchungen von Vagedes, welcher Autor die Tuberkelbacillen in der Mehrzahl der Fälle direkt aus Herden menschlicher Lungentuberkulose reinzüchtete und deren Virulenz für Kaninchen bestimmte. Da jedoch auch Vagedes zum Teil die Virulenz von Tierpassagekulturen bestimmte und diesen Fehler bei seinen Schlußfolgerungen unberücksichtigt läßt, und weiterhin bei der Virulenzbestimmung bloß die Menge der geimpften Bacillen und die pathologischen Veränderungen der Tiere in Betracht zieht, die Zeit, innerhalb welcher sich diese Veränderungen entwickeln, hingegen außer acht läßt, erscheinen auch die Schlußfolgerungen seiner bloß auf die Virulenz der menschlichen Lungentuberkulosebacillen bezüglichen Untersuchungen nicht einwandsfrei.

3) Bei unseren Untersuchungen züchteten wir die Tuberkelbacillen direkt aus verschiedenen Herden chirurgischer Tuberkulose, impften mit gleichgroßen Dosen nahezu gleichgroße Kaninchen und folgerten aus den anatomischen Veränderungen, mit Inanbetrachtnahme der individuellen Disposition der Kaninchen und der Zeit, innerhalb deren sich die Kaninchentuberkulose entwickelte, auf die Virulenz der bei den verschiedenartigen menschlichen Tuberkuloseerkrankungen vorhandenen Tuberkelbacillen.

4) In Anbetracht dessen, daß wir mit nahezu gleichen Dosen, wie Vagedes experimentierten und daß die verschiedene Methodik (Vagedes züchtete die Tuberkelbacillen auf Glycerinserum, wir auf Glycerinkartoffel) auf die Virulenz der Tuberkelbacillen keinen besonderen Einfluß zu haben scheint, konnten unsere Ergebnisse cum grano salis auch mit den vorher richtiggestellten Untersuchungsergebnissen von Vagedes verglichen werden resp. auf eventuelle Virulenzunterschiede von Tuberkelbacillen chirurgischer Tuberkulose und Lungentuberkulose gefolgert werden.

5) Die direkte Reinzüchtung der Tuberkelbacillen aus dem menschlichen Körper gelang uns bloß in Fällen, wo das tuberkulöse Material außer den Tuberkelbacillen keine andere Bacillen enthielt; bei Mischinfektion überwuchern die vorhandenen fremdartigen Bacillen bald die Tuberkelbacillen und macht die Reinzüchtung letzterer unmöglich. Unter 30 Fällen chirurgischer Tuberkulose gelang es uns so auf 5-proz. Glycerinkartoffel 26mal, d. h. in 86 Proz. der Fälle, den Tuberkelbacillus direkt aus dem menschlichen Körper reinzuzüchten und zwar 15mal aus Lymphadenitis, 9mal aus Arthritis resp. Ostitis (Coxitis, Gonitis, Spina ventosa) und 2mal aus Tendovaginitis. Bloß in 2 Fällen von Lymphadenitis und in 1 Fall von Rippenkaries versagte die Reinzüchtung infolge Anwesenheit resp. Mischinfektion von Staphylokokken und B. coli.

6) In Anbetracht dessen, daß die Reinzüchtung der Tuberkelbacillen direkt aus dem menschlichen Körper auch dann gelingt, wenn von einem Material, welches bloß ganz vereinzelte Tuberkelbacillen enthält, 2—3 Oesen auf 5-proz. Glycerinkartoffel verimpft werden, während demgegenüber mit verhältnismäßig riesigen Mengen, z. B. $^1/_2$—1 ccm desselben Materials geimpfte Meeschweinchen selbst wochenlang gesund bleiben können und bei Infektion größere Mengen von 3—5 ccm an Intoxikation meist rasch einzugehen pflegen: müssen wir in Fällen, wo keine Mischinfektion vorliegt und tinktoriell keine Bacillen aufzufinden sind, der

Glycerinkartoffelmethode gegenüber dem Tierversuch zwecks Nachweises der Tuberkulose den Vorzug einräumen und die Anlage von Glycerinkartoffelkulturen neben den Tierversuch zwecks Diagnosestellung der Tuberkulose nunmehr als unerläßlich betrachten.

7) Die oft angetroffene gelbe, rötliche und schwarzbraune Verfärbung der Tuberkelbacillenkolonieen scheinen in Anbetracht dessen, daß manche Kulturen ein und desselben Stammes weiß, andere gelb oder rot gefärbt erscheinen und daß die Farbe nach Uebertragen auf andere Kartoffeln oder nach Tierpassage meist wechselt, keine konstante Eigenschaft, sondern eine Anpassungseigenschaft des Tuberkelpilzes zu sein und von der chemischen Konstitution des Nährbodens (Säuregehalt, Alkalizität etc.) abzuhängen.

8) Oft zeigen gleich schwere Kaninchen, welche mit gleichen Dosen von Tuberkelbacillen ein und derselben Kultur zu gleicher Zeit geimpft wurden, nach gleicher Zeit verschieden ausgesprochene tuberkulöse Veränderungen, was auf das Vorhandensein einer nicht unbeträchtlichen individuellen Disposition hinweist.

9) Der Umstand, daß sich in den Versuchen von Vagedes gerade diejenigen Tuberkelbacillen für Kaninchen am virulentesten erwiesen, welche aus dem Körper tuberkulöser Kaninchen reingezüchtet wurden, spricht deutlich dafür, daß die Virulenz der Tuberkelbacillen für Kaninchen durch Kaninchenpassage gesteigert wird.

10) Aus Herden chirurgischer Tuberkulose reingezüchtete Tuberkelbacillen rufen bei Kaninchen, welche mit Mengen von 0,25, 2, 10 mg intravenös geimpft werden, bloß vom 30.—40. Tag an generalisierte Tuberkulose hervor.

11) In Anbetracht der oft ziemlich ausgesprochenen individuellen Disposition der Versuchstiere gegenüber der Tuberkulose erscheint es gewagt, aus geringfügigen Differenzen bei der Sektion tuberkulöser Versuchstiere auf verschiedene Virulenz der beteiligten Bacillen zu schließen. Das vor Augen haltend und in Anbetracht dessen, daß unsere Versuchstiere, welche mit gleichen Mengen aus ganz verschiedenen Tuberkulosefällen reingezüchteten Tuberkelbacillen geimpft wurden, nach gleicher Zeit keine erheblich abweichenden tuberkulösen Veränderungen erkennen ließen, fühlen wir uns berechtigt, die bei der chirurgischen Tuberkulose vorhandenen Tuberkelbacillen als annähernd gleich virulent zu erklären.

12) Da sich weiterhin ergab, daß unsere Versuchsergebnisse, welche sich auf die Virulenz der bei chirurgischer Tuberkulose beteiligten Tuberkelbacillen beziehen, mit den von Vagedes mit Lungentuberkelbacillen erhaltenen Ergebnissen zum Teil recht gut übereinstimmen, so kommen wir zu dem Schluß, daß die bei der chirurgischen Tuberkulose und bei einem Teil der Lungentuberkulose anzutreffenden Tuberkelbacillen im großen und ganzen nahezu gleich virulent sind. Bloß ein Teil der aus Lungentuberkulose reingezüchteten Tuberkelbacillen scheint für Kaninchen (infolge von Mischinfektion?) virulenter, als die aus chirurgischen Tuberkulosefällen gewonnenen Tuberkelbacillen zu sein.

13) Selbst die Tuberkelbacillen solcher Fälle, welche 2—3 Wochen vorher mit Jodoform behandelt wurden, zeigen keine bemerkenswerte Abweichung der Virulenz, was die von Troje und Tangl gemachte Erfahrung bestätigt, daß das Jodoform innerhalb des menschlichen Körpers die Virulenz der Tuberkelbacillen nicht beeinträchtigt.

14) Der abweichende Verlauf der verschiedenen Tuberkelerkrankungen

namentlich der Hauttuberkulose, der Lungentuberkulose, der chirurgischen Tuberkulose kann in Anbetracht des oben Gesagten bloß auf eine abweichende Disposition der einzelnen Gewebsarten bezw. der einzelnen Organe bezogen werden, wofür auch der Umstand spricht, daß bei Miliartuberkulose des Menschen die Haut und die Hirnsubstanz fast stets tuberkelfrei bleibt und bei Generalisierung der Kaninchentuberkulose Tuberkel außer in der Lunge, insbesondere in den Nieren, weniger häufig in der Leber gefunden werden.

15) In klinischer Hinsicht erscheint die in den ersten 2—3 Wochen vorhandene Temperatursteigerung und die vom zweiten Monate an parallel mit der Generalisierung der Tuberkulose einhergehende Abnahme der Milzschwellung bemerkenswert.

---

**Literatur.**

Arloing, Essai sur la différenciation expérimentelle de la scrofule et de la tuberculose humaines. (Rev. de méd. T. VII. Paris 1887.)

d'Arrigo, Ueber die Gegenwart und über die Phasen des Kochschen Bacillus in den sogenannten skrofulösen Lymphdrüsen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIX. p. 122.)

Auclair, Recherches sur la virulence des bacilles tuberculeux humains provenant de sources cliniques diverses. (Archives de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique. T. IX. 1897. p. 1124.)

Cornet, Die Skrofulose. (Nothnagels spezielle Pathologie und Therapie. Bd. XIV. 1900.)

Denis, Tuberculose pulmonaire à bacilles atténuès, méthode de pronostic expérimental. Thèse de Lyon, 1894.

Krompecher, Recherches sur le traitement des animaux tuberculeux par la méthode de Landerer et sur la virulence des bacilles tuberculeux. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XIV. 1900. p. 723.)

Lehmann, Ueber die Bildung von Oxydationsfermenten (Tyrosinase) durch Bakterien. (Physikal.-mediz Gesellschaft in Würzburg. 6. Febr. 1902. Ref. Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 10.)

Leloir, Congrès pour l'étude de la tuberculose 1893.

Löte, Adalék a gümökór kisérletes kórtanához. (Orvosi Hetilap. 1889.)

Lubinski, Zur Kultivierungsmethode, Biologie und Morphologie der Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. p. 125.)

Nocard, Congrès pour l'étude de la tuberculose 1888. p. 404.

Pégurier, Da la prétendue immunité conférée par la guérison d'une tuberculose locale pour la phtisie pulmonaire. Thèse de Lyon, 1894 p. 14.

Ravenal, Mazyck, P., The comparative virulence of the tubercle bacillus from human and bovine sources. (The Lancet. 1901. Aug. 10 and 17. — Referiert im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Referate. Bd. XXXI. No. 6.)

de Renzi, La tissichezza polmonaire. Napoli 1889. p. 197.

Sander, Ueber das Wachstum von Tuberkelbacillen auf pflanzlichen Nährböden. (Arch. f. Hyg. Bd. XVI.)

Straus, La tuberculose et son bacille. 1895.

Vagedes, Experimentelle Prüfung der Virulenz von Tuberkelbacillen. (Zeitschrift f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. XXVIII. p. 276.)

Veszprémi, Külömbözö eredetü gümöbacillus tenyészetek virulentiájának összehasonlitása. (Orvos. természettudományi értesitö. 1901. Bd. XXIII, I—II.)

---

# Eine nomenclatorische Berichtigung betr. die Cestoden-Gattung Amphitretus R. Bl.

Von **M. Lühe** (Königsberg i. Pr., Zoolog. Museum).

Im meinen Arbeiten über Bothriocephaloideen (vergl. außer Lühe, 1899, p. 45 und 1902, p. 330 f. namentlich Lühe 1902a) habe ich mehrfach auch den von Blanchard (1894) gebildeten Gattungsnamen *Amphitretus* gebraucht und dieser selbe Gattungsname ist daraufhin ebenso wie der von ihm abgeleitete Familienname *Amphitretidae* auch in die zusammenfassenden Darstellungen von Braun (1900, p. 1657 und 1693, sowie 1902, p. 197) übergegangen. Durch eine kürzlich erschienene Arbeit von Ijima und Ikeda (1902) werde ich jedoch darauf aufmerksam gemacht, daß der von mir bisher acceptierte Gattungsname Blanchard's praeoccupiert war. Bereits im Jahre 1885 hat nämlich William E. Hoyle (vergl. Hoyle 1886, p. 67) für einen von der Challenger-Expedition gefischten pelagischen Cephalopoden den Gattungsnamen *Amphitretus* aufgestellt[1]). Es ist klar, daß dieser selbe Name nicht noch außerdem einen Cestoden bezeichnen kann und ich sehe mich daher genötigt, die Blanchard'sche Gattung umzutaufen. Ich schlage für sie den Namen ***Acanthophallus*** nom. nov. vor. Der Familienname ist dann natürlich auch entsprechend zu ändern und es ergibt sich also folgende Synonymie:

Fam. ***Acanthophallidae*** nom. nov.

synonym: *Amphitretidae* Lühe 1902.
*Amphitretidae* Braun 1902.
nec *Amphitretidae* Hoyle 1886.

Gen. ***Acanthophallus*** nom. nov.

synonym: *Amphitretus* R. Blanchard 1894.
*Amphitretus* Lühe 1899.
*Amphitretus* Braun 1900.
*Amphitretus* Lühe 1902.
*Amphitretus* Lühe 1902a.
*Diplogonoporus* Stiles 1896.
nec *Amphitretus* Hoyle 1885.
nec *Diplogonoporus* Lönnberg 1892, em. Lühe 1899.

Typische Art: ***Acanthophallus Wageneri*** (Montic. 1890.)
synonym: *Amphitretus Wageneri* R. Blanchard. 1894 etc. (vergl. Lühe 1902a.

---

1) Wenn Murray (1895, p. 615, 1322, 1327 und 1469) diesen pelagischen Tintenfisch stets *Amphitetrus* nennt, so ist dies augenscheinlich nur ein Schreib- oder Druckfehler.

**Litteratur.**

Braun, M., **1900.** Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreiches. Bd. IV. Abt. II. Cestodes. (Schlußlieferung.)

Braun, M., **1902.** Tierische Parasiten des Menschen. 8°. Würzburg (Stubers Verlag). [Auf dem Titelblatt 1903, jedoch bereits im Oktober 1902 erschienen.]

Hoyle, William E., **1886.** Report on the Cephalopoda collected by H. M. S. Challenger during the years 1873—1876. (Challenger Report. Zoology. Vol. XVI.)

Ijima J. and Ikeda S., **1902.** Notes on a Specimen of *Amphitretus* obtained in the Sagami Sea. (Annotationes Zoologicae Japonenses. Vol. IV. Part. III. p. 85—101. Taf. II.)

Lühe M., **1899.** Zur Anatomie und Systematik der Bothriocephaliden. (Verhandl. d. Dtsch. Zool. Ges. IX. p. 30—55.)

Lühe, M., **1902.** Revision meines Bothriocephalidensystemes. (Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale Bd. XXXI. No. 7. p. 318—331.)

Lühe, M., **1902a.** Bemerkungen über die Cestoden aus *Centrolophus pompilius*. (Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXI. No. 13. p. 629—637.)

Murray, John, **1895.** Summary of the Results obtained at the Sounding, Dredging, and Trawling Stations of H. M. S. Challenger. 2 Vols. (Challenger Report.)

---



# Ueber einen sicilianischen Taubenparasiten.

Von Dr. med. **P. Speiser,** Bischofsburg.

Herrn Professor Dr. M. Bezzi in Sondrio verdanke ich die Möglichkeit, eine Reihe derjenigen Hippobosciden untersuchen zu können, die de Stefani-Perez vor 3 Jahren als Parasiten sicilianischer Tauben mit der Bestimmung *Olfersia falcinelli* Rnd. beschrieb [1]). Wie ich schon in Referaten [2]) über diese Arbeit hervorhob, muß diese Art jetzt in die von mir fester begründete [3]) Gattung *Lynchia* Weyenbergh gestellt werden, und hierhin gehören tatsächlich auch die mir nun vorliegenden Exemplare. Mit der Bestimmung als *L. falcinelli* Rnd. kann ich mich indessen nicht einverstanden erklären, ich betrachte die Art vielmehr als zu *L. maura* (Big.) gehörig. Wesentlich bestimmend ist dabei für mich die Grundfarbe des Thorax, wie die Farbe der wichtigsten Flügellängsadern, von denen Rondani in der Beschreibung [4]) seiner Art ausdrücklich angibt „omnibus lutescentibus non nigris"! Es ist dies dasselbe Merkmal, mit dem er seine *Olfersia botauri* von den verwandten Arten abgrenzt, und, wenn ich anfangs an der Realität dieses Merkmals gezweifelt hatte, so habe ich doch inzwischen ganz helladrige Olfersien gesehen, die zweifellos die *O. botauri* Rnd. repräsentierten. Es ist also sehr wohl denkbar, wenn ich auch unter den vielen Materialien, die durch meine Hände gehen, noch kein solches Stück sah, daß es auch eine solche helladrige *Lynchia* gibt, eben Rondanis *L. falcinelli.* Die vorliegenden Stücke aber haben ganz dunkelbraune Adern. Sie stimmen auch sonst mit *L. maura* Big. so gut überein, daß ich sie anstandslos zu dieser Art stelle.

*Lynchia maura* Big. wurde aus Algier beschrieben, *L. falcinelli* Rnd. aus Malta, und wenn man schon eine Einschleppung dieses Parasiten

---

1) Bollet. del Naturalista (Siena). Vol. XX. 1900. No. 7.

2) Allg. Zschr. f. Entomologie. Bd. VII. 1902. p. 254. — Centralbl. f. Bakt. etc. 1902.

3) Zeitschr. f. systematische Hymenopterol. u. Dipterologie. Bd. II. 1902. p. 155.

4) Bullet. Soc. ent. Ital. Vol. XI. 1879. p. 23.

in Sicilien annehmen will, wie de Stefani-Perez es für möglich hält, so bietet das größere Territorium Algeriens wohl eher die Möglichkeit eines primären Vorkommens als das kleine Eiland Malta.

Ob indessen die andere Ansicht, daß dieser lästige Parasit von den wilden Tauben Siciliens her in die Taubenschläge eingewandert sei, nicht ebensoviel, wenn nicht mehr Berechtigung habe, muß noch dahingestellt bleiben. In unserem Ostpreußen findet man als Parasiten der wilden Tauben nur *Ornithomyia avicularia* L., eine Art einer nahe verwandten Gattung, aber die Gattung *Lynchia* erreicht in der Mediterranregion ihre Nordgrenze. Von Haustauben aus Teneriffa sah ich *L. capensis* Big. (Museum Wien), und auch in Brasilien findet sich eine *Lynchia* auf den Tauben, und zwar *L. lividicolor* Big., die mir Herr Dr. Lutz aus S. Paulo als Taubenparasiten zusandte.

---



# Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag (Vorstand: Prof. Hueppe).]

Von Privatdozent Dr. **Oskar Bail,** Assistenten des Institutes.

Mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen.

## II. Der Sitz der Komplemente im Kaninchenorganismus.

Die erste Veröffentlichung [1]) aus der Reihe der „Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität“ hatte aus der Tatsache, daß eine Mischung kleiner Mengen von Kaninchenserum mit Hundeserum milzbrandtötend wirkt [2]), zu dem Schlusse geführt, daß im Hundeserum größere Mengen von Immunkörpern im Sinne Ehrlichs vorhanden seien, die durch Komplemente, die sich im Blute des Kaninchens vorfinden, leicht zu einem aktiven Körper ergänzt werden. Auf ganz anderem Wege war Malvoz [3]) in einer Arbeit, die leider nur noch in einer Anmerkung berücksichtigt werden konnte, zu der Anschauung geführt worden, daß das Hundeserum Stoffe nach Art eines Immunkörpers enthalten müsse. Inzwischen hat Pettersson in einer überaus sorgfältigen Arbeit [4]) nicht nur die Aktivierbarkeit des Hundes, sondern auch des Hühnerblutes durch Kaninchenserum aufgefunden.

Das Kaninchenserum enthält aber nicht ein einziges Komplement, sondern deren zwei, die sich durch einen Unterschied ihrer Hitzebeständigkeit im Ausmaße von etwa 8° C leicht nachweisen und trennen lassen. Beide passen in den Immunkörper des Hundeserums, das demnach sowohl durch normales wie durch auf 58° erhitztes Kaninchenserum ergänzt werden kann.

Es mußte nun von Interesse sein, zu sehen, in welchem Organe

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. No. 5.
2) Ibid. Bd. XXVII. 1900. p. 10 u. 517.
3) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902. No. 8.
4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 613–626.

außer dem Blute des Kaninchens Komplement zu finden ist und eventuell, ob nicht die 2 verschiedenen Komplemente im Körper verschieden verteilt seien. Der Weg dazu war von selbst gegeben: ähnlich wie das Serum und, wie bereits früher bekannt war[1]), die Leukocyten des Kaninchens dem Hundeblute milzbrandfeindliche Eigenschaften verleihen, so mußten auch die Zellen desjenigen Organes, welches Komplement im Tiere an sein Blut abgeben konnte, außerhalb des lebenden Körpers dazu befähigt sein. Es handelte sich also nur darum, die einzelnen Organe soviel als möglich von ihrem Blutgehalte zu befreien und mit immunkörperhaltigem Hundeserum auf ihre ergänzende Wirkung zu prüfen.

Die zum Versuche verwendeten Kaninchen wurden aus einer Karotis, völlig verblutet, und sodann in die aufsteigende Aorta eine Kanüle eingebunden, durch welche große Mengen (mindestens 8 l für ein mittleres Kaninchen) 0,8-proz. Kochsalzlösung einfließen gelassen wurden. Der Abfluß erfolgte durch eine zweite, in das rechte Herzohr eingebundene Kanüle. Für manche Versuche wurde diese Anordnung modifiziert, z. B. eine Kanüle in die absteigende Aorta, die zweite in die Cava ascendens eingebunden. Die Ausspülung wurde in jedem Falle so lange fortgesetzt, bis nicht nur die ausströmende Flüssigkeit bei ausgiebiger Massage des Tierkörpers farblos geworden war, sondern auch alle Gewebe, z. B. die Muskulatur der Oberschenkel durch ausgetretene NaCl-Lösung, prall ödematös geworden waren. Dann wurden die Organe entnommen, in sterilen Schalen zerrieben und ungefähr gleiche Mengen davon zu Hundeserum, bezw. schwach peptonhaltiger NaCl-Lösung zugesetzt. Die so erhaltenen Zellsuspensionen blieben $^1/_2$ bis 1 Stunde bei 37° stehen, worauf die Flüssigkeiten von den inzwischen zu Boden gesunkenen, gröberen Flocken abgegossen wurden. Eine vollständige Befreiung von Zellen durch Zentrifugieren wurde meist nicht angestrebt, so daß reichlich Zellen und Zelltrümmer während der ganzen Versuchsdauer zur Wirkung gelangen konnten. Die Einsaat von Milzbrand-Bouillonkultur und die Prüfung der Wirkung durch Aussaat auf Agarplatten erfolgte in gewöhnlicher Weise.

Dabei ergab sich, daß Leukocyten, wie man sie durch vorhergehende, intrapleurale Aleuronatinjektion erhält und durch Waschen von allen Resten Körperflüssigkeit befreit, und Milz meist allein imstande sind, durch Komplementabgabe Hundeserum zu ergänzen. Knochenmark war nur in einem einzigen Falle (von 8 Versuchen) schwach wirksam, Lymphdrüsen (Pankreas Aselli) und alle anderen Organe wirkten nicht. In peptonhaltiger Kochsalzlösung aufgeschwemmt, übten die Zellen vieler Organe bisweilen eine geringfügige, wenn auch nur schwer zu erkennende, entwickelungshemmende Wirkung aus, am deutlichsten meist die Lymphdrüsen.

Tabelle I.

Großes Kaninchen, das am Vortage eine Aleuronatinjektion intrapleural erhalten hatte, wird verblutet und von der Aorta her mit physiologischer NaCl-Lösung ausgewaschen. Die Organe wurden, wie oben beschrieben, zerrieben und kleine Mengen des Breies zu je 1 ccm Hundeserum bezw. peptonhaltiger Kochsalzlösung zugesetzt. Nach 1 Stunde Aufenthalt bei 37° wurden die noch trüben Suspensionen von dem inzwischen gebildeten Zellsatze abgegossen. Nur die aus den gewaschenen Leukocyten des Aleuronatexsudates gewonnenen Extrakte wurden zellfrei zentrifugiert. Angeführt sind nur die Ergebnisse der Versuche mit Leukocyten, Milz, Knochenmark, Drüse und Leber.

1) Anmerkung 2.

Die ebenfalls untersuchten anderen Organe (Netz, Niere, Nebenniere, Thymus) hatten keine Wirkung.

| | Sofort | Nach $4^1/_2$ Stunden |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum | 623 im Mittel | ca. 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,05 ccm Kaninchenserum | | 139 |
| 3) 1 „ NaCl-Lösung + 0,05 „ „ | | 8 000 |
| 4) 1 „ Kaninchenserum | | 1 |
| 5) 1 „ Leukocytenextrakt mit Hundeserum | | 1 |
| 6) 1 „ „ „ NaCl-Lösung | | 4 300 |
| 7) Knochenmark in 1 ccm Hundeserum | | } ca. 10 000 |
| 8) „ „ 1 „ NaCl-Lösung | | |
| 9) Milz in 1 ccm Hundeserum | | 115 |
| 10) „ „ 1 „ NaCl-Lösung | | 6 500 |
| 11) Lymphdrüse in 1 ccm Hundeserum | | 2 600 |
| 12) „ „ 1 „ NaCl-Lösung | | 9 000 |
| 13) Leber in 1 ccm Hundeserum | | 9 400 |
| 14) „ „ 1 „ NaCl-Lösung | | 3 080 |

Von großem Interesse war die Untersuchung des Verhaltens der im Hundeserum aufgeschwemmten Organzellen gegen die übliche Inaktivierungstemperatur ($^1/_2$ Stunde Erhitzung auf 58°).

Tabelle II.

Großes Kaninchen, daß am Vortage Aleuronat erhalten hatte, wird verblutet und ausgewaschen. Die zerriebenen Organe werden in je 2 ccm Hundeserum bezw. peptonhaltiger Kochsalzlösung aufgeschwemmt, 1 Stunde bei 37° gehalten. Die danach abgegossenen sterilen Flüssigkeiten werden in zwei Hälften geteilt, von denen die eine $^1/_2$ Stunde auf 58° erhitzt wird. Außer den angeführten Organen wurden noch Knochenmark, Niere, Nebenniere, Leber und Gehirn untersucht und erwiesen sich als unwirksam.

| | Sofort | Nach 4 Stunden |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum | 658 im Mittel | über 5000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum | | 0 |
| 3) 1 „ „ + 0,1 „ „ $^1/_2$ St. 58° | | 12 |
| 4) 1 „ Extrakt aus Pleuraleukocyten mit Hundeserum | | 19 |
| 5) Desgl. $^1/_2$ Stunde 58° | | 3984 |
| 6) 1 ccm Extrakt aus Leukocyten mit NaCl-Lösung | | } über 5000 |
| 7) Desgl. $^1/_2$ Stunde 58° | | |
| 8) Milz in 1 ccm Hundeserum | | 138 |
| 9) Desgl. $^1/_2$ Stunde 58° | | 7 |
| 10) Milz in 1 ccm NaCl | | 5000 |
| 11) Desgl. $^1/_2$ Stunde 58° | | 4800 |
| 12) Lymphdrüse in 1 ccm Hundeserum | | } über 5000 |
| 13) Desgl. $^1/_2$ Stunde 58° | | |
| 14) Lymphdrüse in 1 ccm NaCl | | 1872 |
| 15) Desgl. $^1/_2$ Stunde 58° | | 2448 |

Dieses Verhalten, welches es wahrscheinlich macht, daß die hitzebeständigen Komplemente des Kaninchenserums der Milz die durch Hitze zerstörbaren, den meist polynukleären Leukocyten, wie sie im Aleuronatexsudate sich ansammeln, entstammen, war die Regel. Die Milz machte davon nie eine Ausnahme, wohl aber kam es 2mal vor, daß auch die Exsudatleukocyten nach Erhitzen bis zu einem gewissen Grade wirksam blieben, namentlich wenn sie nicht vorher aus dem „Extrakt“ durch Zentrifugieren entfernt wurden. Zu bemerken ist noch, daß bei Verwendung kleiner, junger Kaninchen die ergänzende Wirkung der Milzzellen für Hundeserum nur eine schwache, wenig ausgesprochene sein kann.

---

*Nachdruck verboten.*

# Ueber die natürliche Milzbrandimmunität des Hundes und des Huhns.

[Aus der patholog. Abteilung des Karolinischen Instituts in Stockholm.]

Von **Alfred Pettersson,** Dozenten am Institute.

Verschiedene Tiere zeigen, wie bekannt, gegen einen bestimmten Krankheitserreger sehr verschiedene Empfindlichkeit. Betreffs Milzbrand ist unter gewöhnlichen Verhältnissen größeres Geflügel fast immun und ausgewachsene Hunde, Schweine und Ratten sind sehr wenig empfindlich. Haus- und Luxushunde sind empfänglicher als Straßenhunde. Ausgewachsene Tiere sind resistenter als sehr junge und sehr alte. Auch schwarze Hunde sollen nach Martel[1]) widerstandskräftiger sein als weiße.

Ein Versuch, die ungleiche Widerstandsfähigkeit verschiedener Tierarten zu erklären, wurde zuerst von Buchner gemacht. Als er die keimtötende Wirkung der Körpersäfte festgestellt hatte, konnte ihre etwaige Bedeutung für die natürliche Immunität ihm nicht entgehen. Das Verhalten mehrerer Tiere gegen gewisse Bakterien, besonders B. typhi und V. cholerae, deutete auch auf einen Zusammenhang zwischen der Resistenz des Tieres und der keimfeindlichen Wirkung seines Blutserums hin. Buchner stellte deshalb die Theorie auf, daß die Ursache der natürlichen Immunität in der keimtötenden Wirkung des Blutes und anderer Körperflüssigkeiten zu suchen sei.

Diese Anschauung erfuhr aber bald kräftige Widersprüche. Lubarsch[2]) hob nachdrücklich hervor, daß das Verhalten des Kaninchens und des Hundes gegen die Milzbrandinfektion im schroffen Gegensatz stehe zu der keimtötenden Wirkung der Sera dieser Tiere auf Milzbrandbacillen im Reagierglase.

Von Denys und Havet[3]) wurde indes gezeigt, daß die bakterizide Wirkung des Serums nicht immer ein sicherer Ausdruck der Fähigkeit des Tieres, Keime zu vernichten, ist. Diese Forscher fanden, daß das Hundeblut außerordentlich bakterizid gegen die Kolonbakterie wirkte; wurden aber die weißen Blutkörperchen ausgeschaltet oder Serum verwendet, so wurde die Abnahme der eingesäten Bakterien weniger bedeutend, um sofort wieder zu steigen, sowie reines Blut oder sonstiges an Leukocyten reiches Material zugesetzt wurde. Dieselben Beziehungen bestanden zwischen zellreichen und zellfreien Exsudaten. Filtriertes Blut und Blutserum von Menschen, Huhn und Taube zeigten aber dieselben Eigenschaften wie das Blut.

Von Bail[4]) wurde weiter festgestellt, daß Hund und Katze auf Milzbrandbacillen wirkender keimfeindlicher Substanzen keineswegs entbehren. Im Gegenteil besitzen die genannten Tiere in dem leukocytenreichen Exsudate oder dem mit Leukocyten gemischten Blutserum eine für Milzbrandbacillen stark bakterizide Flüssigkeit. Daß nicht die Leukocyten allein das wirksame Agens ausmachen, ging daraus hervor, daß

1) Martel, H., Ann. Inst. Pasteur. 1900.
2) Lubarsch, Centralbl. f. Bakt. Bd. VI.
3) Denys et Havet, La Cellule. T. X.
4) Bail, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVII.

sie gar keine so große Wirkung entfalteten, wenn sie in indifferenter Flüssigkeit aufgeschwemmt waren. Ueberdies ermittelte Bail mehrere Methoden, um das für sich allein gegen die Milzbrandbacillen völlig unwirksame Hundeserum keimtötend zu machen. Zusatz von fremden Leukocyten, Kaninchenserum, kurzer Aufenthalt in der Bauchhöhle der Ratte, des Meerschweinchens und des Kaninchens hatten solchen Effekt.

Im Sommer 1901 begann ich im hygienischen Institute in München einige Versuche, um dem Wesen der Immunität der Hühner näher zu treten. Später habe ich diese Versuche verfolgt und konnte dann feststellen, daß das Hühnerserum sich im großen und ganzen dem Hundeserum ähnlich verhält. Da der Hund als Versuchstier vor dem Huhn mehrere Vorteile zeigt, habe ich später meine Versuche besonders mit dem ersteren angestellt. Diese Versuche bezweckten, näher festzustellen, unter welchen Verhältnissen das Hunde- und Hühnerserum aktiviert bezw. die Aktivierbarkeit aufgehoben werden kann und ob den aktivierbaren Körpern dieser Sera irgend eine Bedeutung bezüglich der Milzbrandimmunität der genannten Tiere zukommt.

## Versuch I.

Ausgewachsener Hund, 24 Stunden nach intrapleuraler Aleuronatinjektion entblutet. Aus einigen Portionen des Pleuraexsudats wurden die Leukocyten durch Zentrifugieren entfernt und die Flüssigkeit in verschiedener Weise behandelt. Zwei Proben wurden eine halbe Stunde, die eine bei + 55° C, die andere bei + 60° C erwärmt, eine dritte wurde 1 Stunde lang bei + 38° C mit lebenden Milzbrandbacillen und eine vierte in gleicher Weise sowohl mit lebenden Milzbrand- als mit toten Coli-Bakterien behandelt, die nach der genannten Zeit durch mehrmaliges Zentrifugieren entfernt wurden. Nach diesem Vorbehandeln der Exsudatflüssigkeit wurden die abzentrifugierten Leukocyten wieder zugesetzt. Auch vom Exsudate wurde ein Teil nach $^1/_2$-stündigem Erwärmen zum Versuche verwendet. Als Kontrolle diente eine Aufschwemmung von abzentrifugierten Leukocyten in der mit dem Exsudate gleich großen Menge physiologischer Kochsalzlösung.

Weder durch einmaliges, noch durch mehrmaliges Zentrifugieren gelingt es, alle Bakterienzellen aus der Flüssigkeit zu entfernen. Sie scheinen nämlich an der Wand der Röhre anzuhaften. Wird aber unter Benutzen von neuen Zentrifugenröhren wiederholt zentrifugiert, so gelingt

| | 0 Std. | 3 Std. | 7 Std. |
|---|---|---|---|
| 2 ccm Exsudatflüssigkeit | 979 | 2429 | 66 000 |
| desgl. | | 2206 | 48 400 |
| 2 ccm Exsudat | 1081 | 68 | 0 |
| desgl. | | 106 | 0 |
| 2 ccm erwärmtes Exsudat | 1049 | 1920 | 22 323 |
| desgl. | | 2416 | 48 956 |
| 2 ccm bei + 55° erwärmte Exsudatflüssigkeit + Leukocyten | 1106 | 92 | 7 |
| desgl. | | 137 | 108 |
| 2 ccm bei + 60° erwärmte Exsudatflüssigkeit + Leukocyten | 903 | 220 | 14 |
| desgl. | | 126 | 25 |
| 2 ccm mit Milzbrandbac. behand. Exsudatflüssigk. + Leukocyten | 1151 | 436 | 252 |
| desgl. | | 508 | 578 |
| 2 ccm mit Coli- u. Milzbrandbac. behand. Exsudfl. + Leuk. | 1074 | 762 | 4286 |
| desgl. | | 932 | 7021 |
| 2 ccm mit physiol. NaCl + Leukocyten | 1100 | 804 | 7504 |

es, die Bakterienmenge so weit zu vermindern, daß sie bei mittelgroßer Einsaat keinen Einfluß übt. In diesem Falle enthielt 1 ccm zentrifugierte Exsudatflüssigkeit 170 Keime. Bei einer Einsaat von etwa 1000 Bacillen pro Oese können diese ersteren keine Rolle spielen.

Der Versuch bestätigt vollständig die Angaben von Bail. Die Exsudatflüssigkeit ist wirkungslos, das Exsudat stark, die Leukocyten allein schwach keimtötend. Durch $^1/_2$-stündiges Erwärmen bei 55—60 ° C wird die Aktivierbarkeit der Exsudatflüssigkeit nicht aufgehoben. Dagegen hat die Mischung von Exsudatflüssigkeit und Leukocyten durch das $^1/_2$-stündige Erwärmen bei + 55 ° C ihre bakterizide Wirkung völlig verloren. Die aktivierende Substanz der Leukocyten wird also wie die Serumalexine bei dieser Temperatur zerstört. Aus dem Versuche geht weiter hervor, daß die Aktivierbarkeit durch Vorbehandeln mit Bakterien herabgesetzt wird. Dabei ist bemerkenswert, daß Coli- und Milzbrandbacillen zusammen deutlich größeren Effekt hatten als die letzteren allein. In der mit beiden behandelten Exsudatflüssigkeit haben die Leukocyten keine größere Wirkung entfaltet als in physiologischer Kochsalzlösung.

Sowohl lebende als tote Bakterien haben eine sehr große Affinität zu den keimfeindlich wirkenden Körpern der tierischen Flüssigkeiten. Würde es sich bestätigen, daß durch Behandeln des Hundeserums bezw. des zentrifugierten Exsudats mit Bakterien die Aktivierbarkeit aufgehoben wird, so müßte dies in hohem Grade dafür sprechen, daß diese Flüssigkeiten einen für sich allein unwirksamen, für die Aktivierung aber nötigen Körper enthalten.

### Versuch II.

Ausgewachsener Hund. Ein Teil des nach Injizieren von Aleuronat entstandenen Exsudats wurde zentrifugiert und die klare Flüssigkeit mit toten Anthraxbacillen $^1/_2$ Stunde bei + 37 ° C gehalten. Nach Abzentrifugieren der Anthraxbacillen wurden die vorher abzentrifugierten Leukocyten der Flüssigkeit wieder zugesetzt. Die Anthraxbacillen stammten von einer 15-stündigen Agarkultur und waren durch diskontinuierliches Erwärmen bei + 65 getötet worden.

| | 0 Std. | 3 Std. | 7 Std. |
|---|---|---|---|
| 2 ccm gew. Exsudat | 2688 | 155 | 90 |
| desgl. | 4579 | 272 | 84 |
| 2 ccm mit Anthraxbac. behand. Exsudatflüssigkeit + Leukocyten | 2989 | 217 | 48 614 |
| desgl. | 4265 | 240 | 85 075 |

Das mit Milzbrandbacillen behandelte Exsudat hat nach Zusatz der weggenommenen Leukocyten seine frühere keimtötende Wirkung nicht wiederbekommen. Das Absterben der Milzbrandbacillen im Hundeexsudate kann also keineswegs als die Wirkung der Leukocyten allein betrachtet werden. Sogar in großer Zahl sind sie nicht fähig, eine ebenso starke Keimtötung zu entfalten, wie eine viel geringere Menge in Verbindung mit der nicht behandelten Exsudatflüssigkeit.

### Versuch III.

Mittelgroßer weiblicher Hund. Das in gewöhnlicher Weise erhaltene Exsudat war ziemlich zellenarm. Der Leukocytengehalt wurde deshalb in einigen Proben durch Zusatz der aus bestimmten Mengen

Exsudat abzentrifugierten Leukocyten erhöht. Ein Teil der durch Zentrifugieren zellenfrei gemachten Exsudatflüssigkeit wurde $^1/_2$ Stunde bei 37° C mit toten Milzbrandbacillen behandelt.

| | 0 Std. | 3 Std. | 7 Std. | 24 Std. | 48 Std. |
|---|---|---|---|---|---|
| 5 ccm zellenfreie Exsudatflüssigkeit | 164 | 198 | 7950 | ∞ | |
| desgl. | 308 | 752 | 9349 | ∞ | |
| 5 ccm gewöhnliches Hundeserum | 184 | 261 | 6232 | ∞ | |
| desgl. | 335 | 783 | 8268 | ∞ | |
| 5 ccm Exsudat | 123 | 30 | 0 | 0 | 2 |
| desgl. | 326 | 34 | 0 | 0 | 0 |
| 5 ccm Exsudat + Leukocyten aus 25 ccm Exsudat | 191 | 3 | 0 | 0 | 1 |
| desgl. | 355 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 5 ccm mit Milzbrandbacillen behandelte Exsudatflüssigkeit + Leukocyten aus 30 ccm Exsudat | 189 | 16 | 1 | 46 095 | ∞ |
| desgl. | 390 | 19 | 6 | 62 300 | ∞ |

Die Leukocyten sind in den Proben mit behandelter Exsudatflüssigkeit 6mal zahlreicher als im gewöhnlichen Exsudate. Nach 24 Stunden ist jedoch in der ersteren erhebliches Wachstum eingetreten, während letzteres noch nach 48 Stunden nur einzelne vermehrungsfähige Bacillen enthält. Weder in diesem noch im vorigen Versuche wurde die keimtötende Wirkung des Exsudats durch Behandeln mit Milzbrandbacillen völlig aufgehoben. Es ist aber zu bemerken, daß die zu untersuchende Mischung von behandelter Exsudatflüssigkeit und Leukocyten des aktivierbaren Körpers kaum völlig entbehren dürfte, wenn er auch aus der ersteren ganz vollständig entfernt worden wäre, da er wahrscheinlich den Leukocyten seinen Ursprung verdankt. Ob dies wirklich eine hinreichende Ursache des erwähnten Verhaltens ausmacht, soll übrigens dahingestellt bleiben.

Da die Leukocyten besonders beim Zentrifugieren leicht zu schwer zerteilbaren Klumpen zusammenbacken, in welchem Zustande sie ihre aktivierende Wirkung nicht entfalten können und da sie weiter nicht immer sehr genau dosiert werden können, so habe ich für die folgenden Versuche hauptsächlich das Kaninchenserum als aktivierende Substanz benutzt. Von diesem habe ich immer sehr kleine Mengen ausreichend gefunden. Meistens war ein Zusatz von $^1/_{50}$—$^1/_{80}$ Kaninchenserum zu dem zu untersuchenden Hunde- bezw. Hühnerserum genügend, um eine starke Keimtötung hervorzurufen, bei einer Einsaat von etwa 1000 Milzbrandkeimen pro Oese.

### Versuch IV.

Ausgewachsener männlicher Hund. Zum Versuche wurde teils gewöhnliches, teils $^1/_2$ Stunde bei + 55° C erwärmtes, teils mit lebenden

| | 0 Std. | 3 Std. | 7 Std. | 24 Std. |
|---|---|---|---|---|
| 2 ccm gewöhnliches Hundeserum | 871 | 2683 | 20 224 | ∞ |
| desgl. | 792 | 3561 | 17 744 | ∞ |
| 2 ccm gew. HS + $^2/_{40}$ ccm akt. Kaninchenserum | 826 | 6 | 0 | 21 |
| desgl. | 941 | 32 | 0 | 0 |
| 2 ccm erwärmtes HS + $^2/_{40}$ ccm. akt. KS | 775 | 27 | 0 | 0 |
| desgl. | 836 | 43 | 0 | 3 |
| 2 ccm behandeltes HS + $^2/_{40}$ ccm akt. KS | 998 | 4190 | 21 751 | ∞ |
| desgl. | 908 | 3854 | 23 829 | ∞ |
| 2 ccm akt. KS | 820 | 0 | 0 | 0 |
| 2 ccm physiol. NaCl + $^2/_{40}$ ccm akt. KS | 847 | 3 | 4 | 9921 |

Milzbrandbacillen 1 Stunde bei + 38° C behandeltes Serum benutzt. Aus dem letzteren wurden die Bacillen durch mehrmaliges Zentrifugieren unter Umtausch der Zentrifugenröhren entfernt.

### Versuch V.

Ausgewachsener männlicher Hund. Das Hundeserum wurde teils mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, teils nach ½-stündigem Erwärmen bei + 36° C, teils nach Vorbehandeln 1 Stunde bei + 38° C mit lebenden Milzbrandbacillen zum Versuche benutzt. Die Milzbrandbacillen wurden durch Zentrifugieren entfernt.

| | 0 Std. | 3 Std. | 7 Std. | 24 Std. |
|---|---|---|---|---|
| 2 ccm gewöhnliches Hundeserum | 940 | 4335 | 78 400 | ∞ |
| desgl. | | 6487 | 67 200 | ∞ |
| 2 ccm gew. HS + $^2/_{45}$ ccm akt. Kaninchenserum | 814 | 0 | 0 | 0 |
| desgl. | | 0 | 0 | 0 |
| 2 ccm gew. HS verdünnt 1 bis 2 + $^2/_{45}$ ccm akt. KS | 1030 | 2 | 0 | 0 |
| desgl. | | 0 | 0 | 0 |
| 2 ccm ½ Stde. bei 56 + erwärmt. HS + $^2/_{45}$ ccm akt. KS | 970 | 0 | 0 | 0 |
| desgl. | | 0 | 0 | 0 |
| 2 ccm ½ Stde. bei + 56 erwärmt. HS + $^2/_{45}$ ccm inakt. KS | 877 | 0 | 0 | 0 |
| desgl. | | 0 | 0 | 0 |
| 2 ccm mit Milzbrandbac. behand. HS + $^2/_{45}$ ccm akt. KS | 1195 | 18 | 210 | 32 800 |
| desgl. | | 296 | 483 | 63 600 |
| 2 ccm mit Milzbrandbac. behand. HS + $^2/_{45}$ ccm inakt. KS | 903 | 184 | 737 | 54 890 |
| desgl. | | 1500 | 11 602 | ∞ |

Nach 48 Stunden waren die Röhren 3—10 gleichmäßig getrübt.

Die Aktivierbarkeit des Hundeserums durch Kaninchenserum wird durch ½-stündiges Erwärmen bei + 56° nicht aufgehoben. Auch das Kaninchenserum verliert seinerseits durch ebenso langes Erhitzen im Gegensatz zu den Hundeleukocyten nicht seine Fähigkeit, das Hundeserum gegen den Milzbrandbacillus zu aktivieren. Wie bekannt, wird jetzt von mehreren Forschern angenommen, daß das Kaninchenserum zwei verschiedene, gegen Milzbrandbacillen wirksame, durch ihre ungleiche Thermostabilität trennbare Körper enthält. Beide Körper besitzen offenbar die Eigenschaft, das Hundeserum zu aktivieren. Die zugesetzte Menge Kaninchenserum scheint in diesem Falle zu klein gewesen sein, um die höchste Aktivität des Hundeserums zu entfalten, denn das verdünnte Serum zeigte ebenso große bakterizide Wirkung, und nach 48 Stunden waren sie beide gleich stark getrübt.

Die Behandlung des Hundeserums mit Milzbrandbacillen hat seine Aktivierbarkeit stark herabgesetzt, aber nicht völlig aufgehoben.

### Versuch VI.

Großes Huhn. Ein Teil des Serums wurde ½ Stunde bei + 60° erwärmt und der entstandene Niederschlag abzentrifugiert.

Betreffs seiner Aktivierbarkeit durch Kaninchenserum verhält sich das Hühnerserum dem Hundeserum völlig gleich. Das ½-stündige Erwärmen bei + 60° hat auf diese keinen Einfluß. Dagegen weicht es von dem Hundeserum darin ab, daß es für sich allein regelmäßig eine schwache bakterizide Wirkung gegen den Milzbrandbacillus ausübt. Diese ist in diesem Versuche ziemlich stark. Durch Zusatz von aktivem Kaninchenserum wurde sie jedenfalls bedeutend verstärkt. Durch das Erwärmen wurde das Hühnerserum fast völlig inaktiviert. Nebenbei

| | 0 Std. | 3 Std. | 7 Std. | 24 Std. |
|---|---|---|---|---|
| 2 ccm gewöhnliches Hühnerserum | 1233 | 16 | 78 | c : a 100 000 |
| desgl. | | 22 | 636 | c : a 100 000 |
| 2 ccm erwärmtes Hühnerserum | 1284 | 1119 | 35 488 | ∞ |
| desgl. | | 1043 | 40 068 | ∞ |
| 2 ccm gew. HS + $^2/_{100}$ akt. Kaninchenserum | 1373 | 0 | 0 | 776 |
| desgl. | | 0 | 1 | 521 |
| 2 ccm erwärmtes HS + $^2/_{100}$ akt. KS | 1170 | 0 | 0 | 12 |
| desgl. | | 0 | 0 | 568 |
| 2 ccm physiol. NaCl + $^2/_{100}$ akt. KS | 1157 | 18 | 106 | 36 000 |

bemerkt, trifft dies nicht immer ein. Der Zusatz von Kaninchenserum macht aber die beiden Sera wieder völlig gleichwertig.

## Versuch VII.

Grosses Huhn. Das Blut wurde in so viel 2-proz. Natriumoxalatlösung aufgesammelt, daß der Oxalatgehalt des Blutes 1,0 p. m. wurde. Ein Teil des durch Zentrifugieren gewonnenen Plasmas wurde mit der obersten, leukocytenhaltigen Schicht des Kochsalzes gemischt, ein anderer $^1/_2$ Stunde bei + 55° C erwärmt.

| | 0 Std. | 3 Std. | 7 Std. |
|---|---|---|---|
| 2 ccm gewöhnliches Hühnerplasma | 1246 | 166 | 27 287 |
| desgl. | 1030 | 173 | 20 244 |
| 2 ccm leukocytenhaltiges Hpl | 1127 | 24 | 0 |
| desgl. | 1011 | 3 | 0 |
| 2 ccm gew. Hpl. + $^2/_{35}$ ccm erwärmtes KS | 1106 | 84 | 3421 |
| desgl. | 1289 | 46 | 112 |
| 2 ccm erwärmtes Hpl. + $^2/_{35}$ ccm erwärmtes KS | 1347 | 264 | 5914 |
| desgl. | 1087 | 32 | 1386 |
| 2 ccm Bouillon + $^2/_{35}$ erwärmtes KS | 1399 | 3446 | 36 000 |
| 2 ccm physiol. NaCl + $^1/_{35}$ erwärmtes KS | 1202 | 954 | 5342 |
| 2 ccm erwärmtes KS | 992 | 0 | 0 |

Beim Benutzen des Oxalatplasmas muß man mit der von Gengou und mir nachgewiesenen abschwächenden Wirkung dieses Salzes auf die bakterizide Wirkung gegen Milzbrandbacillen rechnen. Ich habe aber das Oxalatplasma benutzt, da ich keine andere Methode kenne, um beim Huhn Leukocyten zu bekommen. Aleuronatinjektion war stets erfolglos. Sie rief nur eine sehr mäßige, fibrinöse Entzündung hervor. Das Huhn zeigt überhaupt keine Neigung zu seröser oder eiteriger Entzündung. Sogar intraperitoneale Injektion von verdünnter Terpentinemulsion ruft nur mäßige fibrinöse Entzündung hervor.

Die aktivierende Wirkung der Leukocyten ist sehr auffallend. Sie waren auch in ziemlich großer Zahl vorhanden. Die Wirkung des Kaninchenserums ist dagegen weit schwächer. Ein Unterschied zwischen Plasma mit und Plasma ohne Kaninchenserum ist jedoch nicht zu verkennen.

## Versuch VIII.

Huhn. Das Serum wurde teils unverändert, teils nach 1-stündigem Vorbehandeln bei + 37° C mit lebenden Milzbrandbacillen zum Versuche benutzt. Das letztere wurde 2mal zentrifugiert, sodann in den Eisschrank gestellt und den nächsten Tag wiederum zentrifugiert. Danach

war es völlig bakterienfrei. Während der Nacht war ein sehr feiner Niederschlag entstanden, der beim Zentrifugieren alle Bakterien mitriß.

| | 0 Std. | 3 Std. | 7 Std. | 24 Std. |
|---|---|---|---|---|
| 2 ccm gewöhnliches Hühnerserum | 2785 | 877 | 32 000 | ∞ |
| 2 ccm gew. HS + $^{2}/_{10}$ ccm akt. Kaninchenserum | 3146 | 1 | 0 | 7 |
| desgl. | 2760 | 9 | 0 | 11 |
| 2 ccm behandeltes HS + $^{2}/_{10}$ ccm akt. Kaninchenserum | 2634 | 25 | 7 | 5698 |
| desgl. | 3106 | 17 | 12 | 7186 |
| 2 ccm akt. Kaninchenserum | 2671 | 7 | 2 | 3 |

Durch das Vorbehandeln mit Milzbrandbacillen ist die Aktivierbarkeit bedeutend herabgesetzt worden, völlig aufgehoben wurde sie aber nicht. Das behandelte, mit Kaninchenserum versetzte Hühnerserum übt sogar stärkere baktericide Wirkung als das gewöhnliche Hühnerserum ohne Zusatz aus.

Wenn also festgestellt worden war, daß Hunde- und Hühnerserum in ganz ähnlicher Weise durch Leukocyten und Kaninchenserum aktiviert werden können, so war zunächst zu untersuchen, ob dadurch eine generelle Verstärkung der keimtötenden Wirkung der Sera eintritt, oder ob nur eine ganz spezielle, auf den Milzbrandbacillus gerichtete hervorgerufen wird.

## Versuch IX.

Mittelgrosser männlicher Fox terrier. Anordnung wie vorher. Ein Teil des Kaninchenserums wurde $^{1}/_{2}$ Stunde bei + 55° C. erwärmt.

| | Einsaat | 0 Std. | 3 Std. | 7 Std. | 24 Std. |
|---|---|---|---|---|---|
| 2 ccm gew. Hundeserum | B. coli | 1221 | 814 | 3269 | |
| desgl. | „ | | 911 | 1372 | |
| 2 ccm gew. HS + $^{2}/_{30}$ ccm akt. Kaninchenser. | „ | 1197 | 712 | 2999 | |
| desgl. | „ | | 801 | 2594 | |
| 2 ccm erwärmtes HS + $^{2}/_{30}$ ccm akt. KS | „ | 1170 | 926 | 3077 | |
| desgl. | „ | | 1132 | 5227 | |
| 2 ccm gew. HS | B. typhi | 8395 | 1182 | 7343 | |
| desgl. | „ | | 801 | 7619 | |
| 2 ccm gew. HS + $^{2}/_{30}$ akt. KS | „ | 7046 | 814 | 8598 | |
| desgl. | „ | | 750 | 5558 | |
| 2 ccm erwärmtes HS + $^{2}/_{30}$ ccm akt. KS | „ | 7837 | 25 694 | 344 800 | |
| desgl. | „ | | 26 400 | 291 200 | |
| 2 ccm gew. Hundeserum | B. Anthracis | 144 | 7059 | 95 200 | ∞ |
| desgl. | „ | | 4719 | 105 600 | ∞ |
| 2 ccm gew. HS + $^{2}/_{03}$ ccm akt. KS | „ | 136 | 445 | 2216 | c : a 160 000 |
| desgl. | „ | | 750 | 928 | ∞ |
| 2 ccm erwärmtes HS + $^{2}/_{30}$ ccm akt. KS | „ | 139 | 4 | 0 | 0 |
| desgl. | „ | | 5 | 0 | 0 |

Ein Effekt vom Zusatze des Kaninchenserums ist nur auf den Milzbrandbacillen zu spüren. Zu bemerken ist weiter, daß diesen betreffend das erwärmte Hundeserum viel stärker aktiviert worden ist. Dies ist kein allzu ungewöhnliches Verhältnis, denn ich habe mehrmals beobachtet, daß das erwärmte Serum besser aktiviert wurde, als das nicht erwärmte.

## Versuch X.

Großes Huhn. Natriumoxalatplasma. Ein Teil Plasma $^{1}/_{2}$ Stunde bei + 55° C erwärmt. Einsaat B. coli.

| | 0 Std. | 3 Std. | 7 Std. |
|---|---|---|---|
| 2 ccm akt. Hühnerplasma | 416 | 0 | 4 |
| desgl. | | 1 | 26 |
| 2 ccm akt. + $^2/_{15}$ ccm akt. Kaninchenserum | 392 | 5 | 31 |
| desgl. | | 0 | 1 |
| 2 ccm erwärmtes Hpl. | 384 | 496 | 235 200 |
| desgl. | | 419 | 203 200 |
| 2 ccm erwärmtes Hpl. + $^2/_{15}$ ccm akt. KS | 428 | 220 | 28 800 |
| desgl. | | 152 | 118 000 |
| 2 ccm Bouillon + $^2/_{15}$ ccm akt. KS | 402 | 9794 | ∞ |
| 2 ccm physiol. NaCl + $^2/_{15}$ ccm akt. KS | 376 | 3561 | ∞ |

Versuche mit B. typhi fielen ganz ähnlich aus. Die Aktivierung der betreffenden Sera ist also keine allgemeine, jede beliebige Bakterie treffende Erscheinung, sondern nur gegen den Milzbrandbacillus entfaltet das Serum nach Zusatz kleiner Mengen von Kaninchenserum starke keimtötende Eigenschaft.

Auf die sonderbaren Verhältnisse des Hunde- und Hühnerserums wird durch die Untersuchungen von Bordet, Ehrlich und Morgenroth viel Licht geworfen. Bordet[1]) stellte zuerst fest, daß das Choleraimmunserum, welches außerhalb des Tierkörpers fast ganz unwirksam war, im Reagenzglase immer spezifische bakterizide Wirkung ausübte, wenn das Immunserum ganz frisch entnommen war oder mit frischem Normalserum gemischt wurde. Er nahm deshalb an, daß die spezifische bakterizide Wirkung durch das Zusammentreten zweier Substanzen entstehe. Die eine ist das gewöhnliche, in jedem Serum vorkommende, schwach bakterizide und thermolabile Alexin, das in allen Seras vorkommt und bei 55° C zerstört wird. Die andere entsteht durch die Immunisierung; sie ist für sich allein unwirksam, läßt aber das Alexin eine starke spezifische Wirkung entfalten. Weitere Untersuchungen von Bordet[2]), V. Dungern[3]) und Landsteiner[4]) ergaben, daß die spezifischen Hämolysine ganz analog zusammengesetzt sind. Ferner wurde festgestellt, daß die durch das Immunisieren entstandene spezifische Substanz, der Immunkörper, bei der das Alexin unwirksam machenden Temperatur, 55—60° C, nicht verändert wird.

Schon Gruber und Durham[5]) und Pfeiffer[6]) hatten nachgewiesen, daß der Immunkörper des Choleraimmunserums durch die Choleravibrionen gebunden wird. Ehrlich und Morgenroth[7]) konstatierten dasselbe betreffs des hämolytischen Immunkörpers und der zugehörigen Erythrocyten. Die zweite, nicht spezifische, zur Auflösung aber unbedingt nötige Substanz, die von Ehrlich Komplement genannt wird, wird dagegen von den Erythrocyten allein nicht gebunden. Wird aber das Komplement zu Erythrocyten gesetzt, die mit Immunkörpern beladen sind, oder werden rote Blutkörper in eine Flüssigkeit gebracht, die beide Substanzen, Immunkörper und Komplement, enthält, so tritt Auflösung ein. Sie schließen daraus, daß das Komplement allein die Auflösung veranlaßt. Da es aber keine Affinität zu den

1) Bordet, Ann. Inst. Pasteur. 1895.
2) Bordet, Ann. Inst. Pasteur. 1898, 1899.
3) v. Dungern, Münch. med. Wochenschr. 1899.
4) Landsteiner, Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Bd. XXV.
5) Gruber und Durham, Wien. klin. Wochenschr. 1896.
6) Pfeiffer, Centralbl. f. Bakt. 1896. Bd. XIX.
7) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1899.

Erythrocyten hat, kann es sie nur durch Vermittelung des Immunkörpers angreifen. Dieser letztere zeigt eine ausgesprochene Affinität sowohl zu den Erythrocyten als zum Komplement, besitzt also zwei bindende Komplexe oder haptophore Gruppen und wird deshalb von Ehrlich Ambozeptor genannt. Das Komplement hat eine haptophore Gruppe, die zum Ambozeptor, aber nicht zu den roten Blutkörpern paßt und eine zymotoxische, welche die Auflösung veranlaßt.

Nach Ehrlich und Morgenroth[1]) sind auch die nicht spezifischen Hämolysine und die Alexine im Sinne Buchners keine einfachen Körper. Ganz analog der der spezifischen Bakterio- und Hämolysine kommt ihre Wirkung nur durch das Zusammentreten von zwei Substanzen zu stande, eines thermostabilen, dem Immunkörper entsprechenden Ambozeptor und eines thermolabilen zum Auflösen der Zellen nötigen Komplementes.

Das Hundeserum wirkt für sich allein gegen Milzbrandbacillen nicht keimtötend. Es enthält aber einen Körper, der durch verschiedene Substanzen aktiviert werden kann. Dieser Körper ist bei einer Temperatur von 55—60° C thermostabil. Er wird nach dem Behandeln des Serums mit Milzbrandbacillen gleichzeitig mit diesen aus dem Serum entfernt. Er haftet also auch im inaktiven Zustande des Serums an den Milzbrandbacillen. Die Aktivierung ist keine Veränderung des Serums, die sich gegen alle möglichen Bakterien bemerkbar macht. Das Hühnerserum stimmt mit dem Hundeserum in allen diesen Beziehungen völlig überein, nur darin ausgenommen, daß es selbst eine schwache keimtötende Wirkung auf Milzbrandbacillen ausübt. Diese Eigenschaften sind gerade die, welche für einen Ambozeptor im Sinne Ehrlichs charakteristisch sind.

Als aktivierende Substanzen kennen wir durch die Untersuchungen von Bail für das Hundeserum: Hundeleukocyten, fremdartige Leukocyten, Kaninchenserum, Rattenserum und Hühnereiweiß. Hühnerserum wird durch eigene Leukocyten und durch Kaninchenserum aktiviert. Von diesen füllen nur die Kaninchenleukocyten die Anforderung völlig aus, die an ein Komplement gestellt werden muß, nämlich daß es nicht selbst bakteriolytisch wirke. Die Hundeleukocyten wirken schwach und das Kaninchenserum, wie bekannt, stark keimtötend. Man muß also annehmen, daß diese beiden Substanzen auch Ambozeptoren enthalten, die zu den Milzbrandbacillen passen. Im Kaninchenserum wird übrigens die baktericide Wirkung schon bei einer weit kleineren Verdünnung als der bei diesen Versuchen benutzten völlig aufgehoben. Die bisher gemachten Beobachtungen lassen sich mit der Annahme gut vereinigen, daß die Aktivierung des Hunde- und Hühnerserums nichts anderes ist, als ein Zusetzen von Komplementen, die bakteriolytisch auf den Milzbrandbacillen wirken und zu den betreffenden Ambozeptoren passen. Die Fähigkeit des Kaninchenserums auch nach $^1/_2$-stündigem Erwärmen bei + 56° C die beiden genannten Sera zu aktivieren, wirkt nicht befremdend, da dieses Serum für sich allein in diesem Zustande baktericide Wirkung ausübt. Die Aktivierungsversuche mit erwärmtem Kaninchenserum geben uns sogar Aufschluß über den Vorgang der Keimtötung im erwärmten Kaninchenserum selbst. Da das stark verdünnte, erwärmte Kaninchenserum im stande ist, die Hunde- und Hühnerambozeptoren zu komplettieren, so muß der aktivierende Körper ein Komple-

1) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1899. No. 22.

ment sein und zwar ein thermostabiles. Dann ist wohl nicht zu bezweifeln, daß auch die bakteriolytische Wirkung des erwärmten Kaninchenserums selbst auf ein Zusammenwirken zweier Substanzen beruht. Sie ist also mit der cytolytischen Wirkung erhitzter Organextrakte nicht zu vergleichen, die, wie Korschun und Morgenroth [1]) nachgewiesen haben, nicht komplexer Natur sind.

Die Eigenschaften des Hundeserums betreffs des Milzbrandbacillus können in folgender Weise erklärt werden: Das Serum enthält immer in beträchtlicher Menge Ambozeptoren, die zu der genannten Bakterienart passen, leidet aber einen vollständigen Mangel an zu diesen Ambozeptoren passenden Komplement. Infolgedessen kommt im Serum keine Bakteriolyse zu stande. Die Hundeleukocyten sind dagegen reich an Komplement, enthalten aber auch eine kleine Menge Ambozeptoren. Die Leukocyten wirken deshalb schon für sich allein in indifferenter Flüssigkeit bakterizid, in weit geringerem Grade aber als in gleicher Menge Hundeserum. Von den übrigen komplementspendenden Substanzen enthält das Kaninchenserum sogar deren zwei von verschiedener Thermostabilität. Daß Hühnereiweiß Komplement enthält, wirkt nicht befremdend, da es nach den Untersuchungen von Scholl bakterizide Eigenschaften besitzt. Das Hühnerserum verhält sich in ähnlicher Weise wie das Hundeserum, nur ist es selten völlig frei von Komplement und entfaltet deshalb an sich schon schwache baktericide Wirkung.

Wenn die Hunde- und Hühnerorganismen, also im Gegensatz zu früheren Annahmen über sehr wirksame bakterizide Stoffe gegen den Milzbrandbacillus verfügen, so war zunächst zu untersuchen, ob diese eine größere Rolle spielen betreffs der Immunität dieser Tiere gegen Milzbrand. Eine solche Annahme war in Hinsicht auf die gewissermaßen spezifische Wirkung dieser Stoffe a priori eben nicht unwahrscheinlich. Es galt also bei der Infektion die Wirkung der bakteriolytischen Substanzen auszuschalten. Für diesen Zweck folgte ich der von Wassermann [2]) angegebenen Versuchsanordnung. Wird einem Tiere ein nicht indifferenter Stoff eingespritzt, so entsteht nach einiger Zeit im Tierorganismus ein dazu passender Antikörper, der zu der injizierten Substanz große Affinität hat. Ist die betreffende Substanz in Bindung mit dem Antikörper getreten, so hört ihre schädliche Wirkung auf. Von Bordet [3]) und Ehrlich und Morgenroth [4]) ist festgestellt worden, daß auch nach Vorbehandeln von Tieren mit hämolytischen Immunkörpern Antiimmunkörper und nach Vorbehandeln mit frischem Normalserum Antikomplement entsteht. Wassermann gelang es nun durch Injizieren von antikomplementhaltigem Serum gleichzeitig mit Typhusbacillen die natürliche Immunität des Meerschweinchens gegen Typusbacillen herabzusetzen. Die Ursache ist in dem Wegfall der bakteriziden Wirkung des Serums zu suchen, das nach dem Ausschalten des Komplements durch das Antikomplement eintritt. Auch gegen bakteriolytische Immunkörper können Antiimmunkörper dargestellt werden. Pfeiffer und Friedberger [5]) erhielten durch Immunisierung von Kaninchen mit einem von einer Ziege stammenden inaktivierten Choleravibrionenlysin einen Antiimmunkörper. Dieser zeigte sich auch imstande, den zu den Cholera-

1) Korschun und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1902.
2) Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII.
3) Bordet, Ann. Inst. Past., 1900.
4) Ehrlich u. Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1900.
5) Pfeiffer u. Friedberger, Berl. klin. Wochenschr. 1902.

vibrionen passenden Ambozeptor des normalen Ziegenserums unwirksam zu machen. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß es gelingen würde, durch Vorbehandeln eines Tieres mit Hundeserum einen gegen die zu den Milzbrandbacillen passenden Ambozeptoren wirksamen Antikörper darzustellen. Nach Bindung der Ambozeptoren durch diesen Antikörper müßte sowohl die Aktivierbarkeit des Hundserums im Reagierglase wegfallen als auch die Resistenz des Hundes gegen Milzbrandinfektion abgeschwächt werden, wenn sonst die bakterizide Wirkung des leukocytenhaltigen Hundeserums für diese Immunität von irgend welcher Bedeutung wäre. Versuche wurden deshalb in beiden Richtungen angestellt.

### Versuch XI.

Eine weiße, 31,7 Kg schwere Ziege wurde während $2^1/_2$ Monaten mit inaktiviertem, von Blutkörpern freiem Hundeserum vorbehandelt, das in steigenden Dosen subkutan injiziert wurde. Die während der ganzen Zeit injizierte Serummenge betrug 1570 ccm. Das Tier zeigte während der Behandlung kein auffallendes Unbehagen und fraß ziemlich gut. Das Gewicht nahm jedoch allmählich ein wenig ab und war am Ende der Vorbehandlungsperiode 5 Kg leichter als anfangs. Zwei Wochen nach der letzten Injektion wurde sowohl dieser als einer nicht vorbehandelten Ziege Blut entnommen. Die daraus gewonnenen Sera wurden bei + 55° C inaktiviert und gewöhnlichem Hundeserum in verschiedenen Verhältnissen zugesetzt. Die Serummischungen wurden mit gewöhnlichem Kaninchenserum aktiviert. Als Beispiel mag folgende Tabelle dienen. Jede Röhre enthielt 2 ccm der Mischung von Hunde- und Ziegenserum im Verhältnis 9:1 und $^1/_{60}$ gewöhnliches Kaninchenserum.

| | 0 Std. | 3 Std. | 10 Std. |
|---|---|---|---|
| Hundeserum + Ziegenimmunserum + $^1/_{60}$ akt. KS | 816 | 0 | 3135 |
| desgl. | 784 | 7 | 4998 |
| Hundeserum + gew. Ziegenserum + $^1/_{60}$ akt. KS | 892 | 3 | 0 |
| desgl. | 836 | 0 | 0 |

Der Zusatz von Immunserum hat offenbar eine Herabsetzung der Aktivierbarkeit des Hundeserums bewirkt, eine völlige Aufhebung ist aber weder bei diesem noch bei anderen Mischungsverhältnissen der Sera erzielt worden. Eine Erklärung dieses Verhältnisses ist nicht leicht zu geben. Es lassen sich mehrere Möglichkeiten denken. Erstens kann der Gehalt des Immunserums an Antiambozeptoren zu klein gewesen sein, um alle Zwischenkörper zu binden. Dann sollte aber die Herabsetzung der Aktivierbarkeit bei großem Zusatz von Ziegenimmunserum stärker werden als bei kleinem, was ich nicht bemerkt habe. Ferner kann die Affinität zwischen Ambozeptor und Komplement vielleicht fast ebenso groß sein wie die zwischen Antikörper und Ambozeptor. Solchenfalls würde erst ein sehr starker Ueberschuß an Antikörpern die Aktivierbarkeit aufheben können. Schließlich wäre es denkbar, daß das Hundeserum mehrere Ambozeptoren enthielte, und das im Ziegenkörper Antikörper nur gegen einen oder einige gebildet werden.

### Versuch XII.

Ein ausgewachsenes 2480 g schweres Kaninchenweibchen (A) wurde während 2 Monate mit aktivem Hundeserum vorbehandelt. Jedesmal wurden 10 ccm anfangs subkutan später intraperitoneal eingespritzt. Die

Gesamtmenge des injizierten Serums betrug 100 ccm. Ein zweites 2370 g schweres Kaninchenweibchen (B) wurde während derselben Zeit in ähnlicher Weise mit aktivem Pleuraexsudate vom Hund vorbehandelt. Das Exudat wurde nicht so gut vertragen und deshalb konnten nur 80 ccm injiziert werden. Eine Woche nach der letzten Einspritzung wurden die Tiere entblutet. Das Gewicht des Kaninchen (A) war 2440, die des Kaninchen (B) 2580 g.

Am nächsten Tage, 13. September 1902, wurden Infektionsversuche mit drei jungen ungefähr drei Monate alten Hunden vom gleichen Wurf angestellt. Die Infektion wurde immer intramuskulär gemacht, da diese, wie Martel[1]) gezeigt, den besten Erfolg hat. Der Milzbrandstamm war von mittlerer Virulenz. Mittelgroße Kaninchen gingen nach intraperitonealer Injektion von einer kleinen Oese 24-stündiger Agarkultur in etwa 36—40 Stunden ein. Dem einen Hunde, einem weißen, 4910 g schweren Weibchen wurden vormittags um 11 Uhr 12 ccm inaktiviertes Serum vom Kaninchen (A) intramuskulär am rechten Schenkel und gleich danach 4 ccm einer Aufschwemmung von 24-stündiger Milzbrandbacillenkultur eingespritzt. Die injizierte Menge dürfte ungefähr 2 Oesen der Agarkultur entsprechen. Um 6 Uhr abends wurden noch 5 ccm desselben Serums an der genannten Stelle eingespritzt. Am nächsten Tage 14. September 1902, um 9,30 Uhr ging der Hund ein.

Schenkel geschwollen, rötlich. Unterhaut und Muskelgewebe blutig-ödematös. Milz bedeutend vergrößert, dunkel. Oedemflüssigkeit, Blut und Milz enthielten zahlreiche Milzbrandbacillen. In der Niere waren sie vorzugsweise in den Glomerulis zu finden.

Dem zweiten Hunde, einem weiß und schwarzen, 5200 g schweren Weibchen, wurden gleichzeitig mit dem vorigen 12 ccm inaktiviertes Serum vom Kaninchen (B) und danach eine ebenso große Menge der Milzbrandbacillenaufschwemmung wie im vorigen Fall intramuskulär am rechten Schenkel injiziert. Um 6 Uhr abends und am nächsten Tage um 11 Uhr vormittags wurden je 5 ccm desselben Serums an derselben Stelle eingespritzt. Um 6,30 Uhr nachmittags den 14. Septbr. 1902 geht der Hund ein. Sektionsbefund wie bei dem vorigen Tiere.

Dem dritten Hunde, einem weiß und schwarzen, 4500 g schweren Männchen, wurden zu gleichen Zeiten wie bei den vorigen ebenso große Mengen von inaktiviertem gewöhnlichen Kaninchenserum und Milzbrandbacillenaufschwemmung injiziert. Ueberdies bekam er am 14. September nachmittags noch 5 ccm gewöhnliches Kaninchenserum. 15. September. Sehr starke Schwellung des Schenkels und der Vorhaut, nimmt fast kein Futter. 20. September. Schenkel und Vorhaut abgeschwollen, Hund mager, hat wieder Futterlust bekommen. Injektion im rechten Pectoralis von 15 ccm inakt. Serum vom Kaninchen (A). 26. September. Hund sehr herabgekommen, hat die letzten Tage nichts gefressen. An der letzten Injektionsstelle, ein etwa 10-pfenniggroßes, graues, reaktionsloses, übelriechendes Geschwür. Am Abend geht der Hund ein. Weder an der ersten Injektionsstelle noch im Blute oder in den Organen können Milzbrandbacillen mikroskopisch oder durch Kultur nachgewiesen werden.

In diesem Versuche erlag das Kontrolltier erst 13 Tage nach dem anderen und zwar nicht der Milzbrandinfektion sondern einem neuen Versuche. Die Milzbrandinfektion darf wohl schon am 8. Tage als überstanden angesehen werden. Beide mit Immunserum gespritzten Hunde

1) Martel, H., Ann. Inst. Pasteur. 1900.

sind dagegen an Milzbrand zu Grunde gegangen. Das Antiserum hat also die Immunität wirklich aufgehoben. Dabei hat sich das mit Hundeserum dargestellte Antiserum ebenso gut erwiesen als das durch Exsudate erzeugte. Der mit dem ersteren injizierte Hund ist sogar früher eingegangen. Wahrscheinlich war dieses Serum reicher an Antikörpern, da das betreffende Kaninchen das Immunvorbehandeln besser vertrug. Kann es sich erweisen lassen, daß die Herabsetzung der Immunität nach Injektion von Antiserum auf das Wegfallen der Bakteriolyse beruht, so muß die Gleichwertigkeit der beiden Antisera als der beste Beweis gelten für die Bedeutung der aktivierbaren Substanz des Hundeserums für die Milzbrandimmunität.

### Versuch XIII.

Ein grauschwarzes, langhariges Kaninchen wurde während 9 Monate mit 250 ccm aktivem Hundeserum in der früher genannten Weise vorbehandelt. Das Tier vertrug die Immunisierung schlecht, die deshalb lange Zeit in Anspruch nahm. Das Gewicht war anfangs 1915 und betrug am Ende der Vorbehandlungsperiode 1925 g.

Am 11. Dezember 1902 um 12 Uhr mittags wurde ein ausgewachsener, schwarzer, 9 kg schwerer Hund nach Injektion von 10 ccm inaktiviertem Serum des vorbehandelten Kaninchens mit einer Oese Milzbrandbacillenkultur im rechten Schenkel infiziert. Abends um 8 Uhr und am nächsten Tage, 12. Dezember, um 8 Uhr vormittags wurden wieder je 10 ccm desselben Serums injiziert. 13. Dezember. Hund wird am Morgen tot gefunden. Schenkel stark geschwollen, Blutungen und blutiges Oedem im Unterhaut- und Muskelgewebe, Leber dunkel, Milz nicht vergrößert, von gewöhnlicher Farbe. Die Oedemflüssigkeit war äußerst reich an Bacillen. Dagegen waren in Präparaten vom Blute und den Organen keine Bacillen zu sehen. Durch Kultur wurden aber Milzbrandbacillen im Blute nachgewiesen.

Als Kontrolltier wurde ein weißer ausgewachsener, 6,25 kg schwerer weiblicher Hund von anderem Wurf benutzt. Er bekam zu gleichen Zeiten ebensoviel der Milzbrandkultur und gleichgroße Mengen inaktiviertes, gewöhnliches Kaninchenserum wie der vorige Hund. 12. Dezember. Hund ziemlich munter. 13. Dezember Nachmittag. Hund sieht krank aus. 14. Dezember. Um 6 Uhr nachmittags geht der Hund ein. Anatomischer und bakteriologischer Befund wie bei dem vorigen.

In diesem Versuche ist auch der Kontrollhund an Milzbrand gestorben. Er ist aber wenigstens doppelt so lange am Leben geblieben als der andere. Wenn man das kleinere Gewicht in Betracht zieht dürfte der Kontrollhund wahrscheinlich viel empfänglicher gewesen sein. Die benutzte Kultur war auch sehr virulent. Sie stammte von dem ersten mit Antiserum behandelten Hunde des vorigen Versuches und tötete auch in kleinen Mengen intraperitoneal injiziert Kaninchen fast ausnahmslos in 24 Stunden.

Von zwei weiteren Versuchen ist der eine, der mit zwei etwa 4 Monate alten Hunden vom gleichen Wurf angestellt wurde, ebenso wie die vorigen ausgefallen. In dem vierten aber ist der Kontrollhund etwa 35 Stunden früher eingegangen als das mit Antiserum injizierte Tier. Da die Hunde aber vom ungleichem Wurf waren und der erstere außerdem 5 kg kleiner, dürfte man diesem Versuche bei negativem Ausfall keine allzu große Bedeutung beimessen können.

Wenn man die Fähigkeit des Antiserums, die Aktivierbarkeit des

Hundeserums herabzusetzen, vor Augen hat, so ist es nicht unwahrscheinlich, daß eine Abschwächung der keimtötenden Wirkung im Hundekörper die Infektion befördert hat. Wahrscheinlich spielen aber auch andere Momente ein. Einleuchtend ist, daß beim Vorbehandeln von Kaninchen mit Hundeserum bezw. Hundeexsudat nicht nur gegen die auf Milzbrandbacillen passenden Ambozeptoren und wirksamen Komplemente Antikörper gebildet werden, sondern dazu noch eine ganze Menge andere. Durch Vorbehandeln von Tieren mit Zellsekreten können cytolytische Immunkörper gebildet werden. So hat v. Dungern durch Vorbehandeln mit Milch das Brustdrüsenepithel lösende Immunserum dargestellt. Beim Vorbehandeln mit Serum bekommt das Immunserum oft auch hämolytische Eigenschaften. Das Hundeserum enthält natürlicherweise mehrere andere Zellsekrete als nur die Ambozeptoren und Komplemente. Die Möglichkeit ist deshalb nicht ausgeschlossen, daß beim Vorbehandeln mit Hundeserum Immunkörper gebildet werden, welche auf die Zellen dieser Tierart schädlich einwirken. Ich habe auch einige Beobachtungen gemacht die auf eine gewebsschädigende Wirkung des Immunserums hindeuten können. Im Versuch XII wurde dem Kontrolltiere, nachdem es die Milzbrandinfektion überstanden hatte, Immunserum allein injiziert. Der Erfolg davon war ein nekrotisches Geschwür und das Tier ging marastisch zu Grunde. In zwei anderen Fällen habe ich bei gleichzeitiger Injektion von Immunserum und Milzbrandbacillen Gewebsnekrosen beobachtet, während eine Injektion von gewöhnlichem Kaninchenserum und Milzbrandbacillen keine solche hervorgerufen hatte. Bei gesunden kräftigen Tieren entstanden dagegen nach Injektion von 10—15 ccm Immunserum allein keine merkbaren Veränderungen. Wenn also auch das Immunserum unzweifelhaft die Immunität herabsetzte, so ist es doch nicht ganz klar in welcher Weise dies vor sich geht. Nur das scheint ziemlich sicher zu sein, daß diese Herabsetzung nicht auf Mangel von Komplementen beruht, der etwa durch eine negative chemotaktische Wirkung auf die komplementhaltigen Hundeleukocyten zu beziehen wäre. Denn die von der Injektionsstelle entnommene Oedemflüssigkeit war in meinen Versuchen ziemlich reich an Leukocyten, mindestens ebenso reich daran, wie oft die Exsudatflüssigkeit der Pleurahöhle.

Nachtrag zur Korrektur: In einer soeben in diesem Centralblatte erschienenen Arbeit hat auch Bail dieselbe Erklärung für die Aktivierbarkeit des Hundeserums gegeben.

---

# Ueber die erfolgreiche Behandlung tödlicher intraperitonealer Streptokokken-Infektionen beim Kaninchen durch präventive Pyocyanase-Immunproteïdin-Injektionen.

Von Prof. Dr. **R. Emmerich** und Dr. **R. Trommsdorff.**

(Mit 2 Figuren.)

Für die meisten bakteriellen Infektionskrankheiten wurden bekanntlich Schutzimpfungsmethoden oder serumtherapeutische Verfahren ausgebildet, die sich allerdings nur bei wenigen menschlichen und tierischen Infektionskrankheiten bewährt haben. Es schien ein fast allgemeingültiges Gesetz zu sein, daß das Blutserum künstlich immunisierter Tiere ein Heilmittel gegen die betreffende Infektionskrankheit darstelle.

Insbesondere bei einer Bakterienart aber schien es, als müsse eine Ausnahme von diesem Gesetz konstatiert werden, nämlich bei den durch den Streptococcus pyogenes verursachten Krankheiten. Erst spät ist es Marmorek gelungen, ein Antistreptokokkenserum herzustellen, dessen Anwendung sich jedoch bei den so zahlreichen, durch den Streptococcus pyogenes verursachten Krankheitsprozessen des Menschen nicht bewährte. Späterhin hat Aronson[1]) über ein wirksames Antistreptokokkenserum berichtet. Durch die Anwendung dieses inzwischen verbesserten Serums hat Baginsky[2]) gute Resultate bei der Behandlung der Scarlatina erzielt.

Auch Escherich und Moser (Naturforscherversammlung 1902 in Karlsbad) geben an, daß sie mit ihrem Antistreptokokkenserum Scarlatina mit Erfolg behandelt haben. Schließlich ist noch zu erwähnen, daß Menzer auf Senators Klinik eine günstige Wirkung des Antistreptokokkenserums beim Gelenkrheumatismus beobachtet hat.

Das in unseren Versuchen angewandte Pyocyanase-Immunproteïdin wurde in der bereits früher von Emmerich und Löw[3]) veröffentlichten Weise dargestellt durch Ausfällung mittels Ammoniumsulfat.

Diese Herstellungsmethode des Pyocyanase-Immunproteïdins war in der Regel folgende:

100 ccm einer auf $^1/_{10}$ des Volumens im Vakuum eingeengten (d. h. aus 1000 ccm) Pyocyaneus-Kultur (auf künstlicher Nährlösung: Pepton 5 ‰, Dikaliumphosphat 2 ‰, Chlornatrium 2 ‰, Natriumacetat 5 ‰, Magnesiumsulfat 0,1 ‰, 4 Wochen bei 37° gezüchtet) wurde mit frisch umkristallisiertem Ammoniumsulfat gesättigt. Nach 18-stündigem Stehen wurde der flockige, dunkelbraungrüne Niederschlag abzentrifugiert, in ca. 30 ccm Aq. dest. gelöst und 12 bis 18 Stunden dialysiert, bis die Flüssigkeit fast das doppelte Volumen hatte. Nun wurde einem Kaninchen aus der Carotis etwas Blut steril entzogen, und ca. 2 ccm davon vor der Gerinnung in diese 60 ccm Lösung unter Schütteln eingetragen. Dann wurde das Kaninchen schnell getötet, die Milz steril entnommen (event. auch desgl. von einem zweiten Tier) und auch diese, nach Zerreiben in sterilem Mörser, allmählich zugesetzt, außerdem noch

1) Berl. klin. Wochenschr. 1896. No. 32.

2) Aronson, Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 42 u. 43 und Baginsky, Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 49. p. 1154.

3) Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankheiten. Bd. XXXVI. 1901. p. 22.

0,2 Proz. kohlensaures Kali und diese ganze Mischung dann ca. 3 Stunden anfangs bei 40°, später bei 37°, digeriert. Das so erhaltene Pyocyanase-Immunproteïdin wurde dann im Eisschrank aufbewahrt.

Zu beachten ist noch, daß die Reaktion des Präparates nur leicht alkalisch sein darf. Eventuell wird mit Acid. acetic. dilut. eine zu starke Alkalität herabgesetzt. Da wir immer möglichst frisch bereitete Präparate benutzen wollten, beschränkte sich die Herstellung des Pyocyanase-Immunproteïdins immer nur auf geringe Quantitäten, so daß bei den einzelnen Versuchen meist differente Präparate zur Anwendung kamen.

Da die Ausgangskulturen verschiedener Herkunft waren, gelegentlich auch bei der Herstellung durch äußere Verhältnisse Verschiedenheiten in den Zeiten der Digestion u. s. w., resp. der Benutzung nach Fertigstellung des Präparates eintraten, so sind daraus mit großer Wahrscheinlichkeit die vereinzelten ungünstigeren Resultate bei den Immunisierungsversuchen herzuleiten. (Siehe die Bemerkungen in den Protokollen und am Schluß.)

Die Tierversuche wurden in der Art gemacht, daß wir Kaninchen einige Tage verschieden große Mengen der beschriebenen Pyocyanase-Immunproteïdin-Lösung subkutan injizierten, dann die intraperitoneale Streptokokkeninfektion folgen ließen und meist noch 1 oder 2 Pyocyanase-Immunproteïdin-Injektionen am nächsten Tag oder an den folgenden Tagen ausführten.

Um nicht von Zufälligkeiten abhängig zu sein, mußte der tödliche Ausgang der Streptokokkeninfektion der Kontrolltiere sicher sein. Da Vorversuche gezeigt hatten, daß alle intraperitoneal mit unseren Streptokokken infizierten Kaninchen meist schon in 12—15 Stunden, ganz sicher aber später zu Grunde gingen, so wählten wir diese Art der Infektion durch intraperitoneale Injektion, wobei wir mindestens die 10-fach tödliche Dosis anwendeten.

Die subkutane Injektion des Immunproteïdins wurde in der Regel gut vertragen, d. h. die Tiere zeigten nach den Injektionen völlig normales Verhalten, fraßen etc., und nur in einigen Fällen (siehe z. B. Tier XIII, Versuch VI) wo die Reaktion des Präparates anscheinend etwas zu stark alkalisch war, schienen die Tiere bei der Injektion Schmerzen zu haben, lagen kurze Zeit ($^1/_2$—1 Stunde) ausgestreckt auf dem Bauch, erholten sich dann aber rasch.

Die zur Infektion benutzte Streptokokkenkultur war ursprünglich aus der Lunge eines Menschen gezüchtet und durch vielfache Kaninchenpassagen zu einer außerordentlichen Kaninchenvirulenz gesteigert.

**Nie** überlebte ein Tier (von ca. 2500—3000 g) die intraperitoneale Infektion mit $^1/_2$ ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur, und selbst $^1/_{10}$ ccm derselben genügte meist, den Tod der Kaninchen in ca. $^1/_2$ Tag herbeizuführen, wenn auch zufällig gerade unter den bei untenstehenden Versuchen benutzten Kontrolltieren das eine die Infektion von $^1/_2$ ccm $2^1/_2$ Tage (Versuch III) und ein anderes eine solche von $^1/_{10}$ ccm $1^1/_2$ Tage (Versuch VI) überlebte.

Jedenfalls war die Infektion jedesmal als eine sehr heftige und sicher tödliche zu bezeichnen.

Aus dem Herzblut und der meist vergrößerten Milz der der Infektion erlegenen Kaninchen ließen sich jedesmal Streptokokken in Reinkultur züchten; desgleichen aus dem Peritonealexsudat. Die Därme zeigten meist starke Injektion.

Es mögen nun zunächst die Protokolle der einzelnen Versuche folgen:

Versuch I.

| Tier I. 1900 g | Kontrolltier. 2100 g |
|---|---|
| 25. VI. 1902. 4,5 ccm Pyoc.-Immunprot. subkutan | |
| 27. VI. 1902. 4,5 „ „ „ „ | |
| 28. VI. 1902. 2,0 „ „ „ „ | |
| 30. VI. 1902. Infektion: 1/2 ccm Streptok.-Bouill.-Kultur intraperitoneal; gleich danach 1,0 ccm Pyoc.-Immunprot. subkutan | 30. VI. 1902. Infektion wie Tier I. |
| 1. VII. 1902. 1,2 „ „ „ „ | 1. VII. 1902. † (12 Std. nach der Infektion) |
| **Das Tier lebt noch nach 2 Monaten,** hat sehr zugenommen an Größe und Gewicht, **ist demnach von der schweren Infektion geheilt.** | |

Versuch II.

| Tier II. 2850 g | Kontrolltier. 2870 g |
|---|---|
| 7. VII. 1902. 4,0 ccm Pyoc.-Immunprot. subkutan | |
| 9. VII. 1902. 4,0 „ „ „ „ | |
| 10. VII. 1900. 3,5 „ „ „ „ danach Infektion: 1/2 ccm Streptok.-Bouill.-Kultur intraperitoneal | 10. VII. 1902. Infektion wie Tier II. |
| 11. VII. 1902. 1,5 ccm Pyoc.-Immunprot. subkutan | 11. VII. 1902. † (12 Std. nach der Infektion) |
| 13. VII. 1902. † (65 Std. nach der Infektion) | |
| Das Pyocyanase-Immunproteïdin hatte vom 9. VII. an nicht mehr im Eisschrank, sondern im Laboratorium gestanden. | |
| Sektionsbefund: In der Bauchhöhle vereinzelte kleine linsengroße Eiterflöckchen. Auf dem Kolon ein etwa 1-Markstückgroßes Blutkoagulum, in dem mikroskopisch Coli- und Heubacillen-ähnliche Stäbchen nachgewiesen werden. Die anderen Organe normaler Befund. In der Milz und im Herzblut mikroskopisch bei Durchsuchung zweier Präparate keine Streptokokken zu finden; doch wächst aus dem Herzblut Streptococcus in Reinkultur. | |
| Vom Peritoneum abgestrichenes Sekret enthält reichlich, z. T. mit veränderten Streptokokken gefüllte Leukocyten und verhältnismäßig wenig in verschiedenem Grade der Auflösung befindliche Streptokokkenketten (gequollene und sehr undeutlich gewordene Ketten). | |

Versuch III.

| Tier III. 2600 g | Tier IV. 2600 g | Tier V. 2600 g | Kontrolltier 2600 g |
|---|---|---|---|
| 22. VII. 1902 2,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 22. VII. 1902 2,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 22. VII. 1902 2,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | |
| 23. VII. 1902 4,25 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 23. VII. 1902 4,25 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 23. VII. 1902 4,25 ccm Pyoc.Impr. subkutan | |
| 25. VII. 1902 4,25 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 25. VII. 1902 4,25 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 25. VII. 1902 4,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | |
| 27. VII. 1902 4,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 27. VII. 1902 4,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 27. VII. 1902 4,25 ccm Pyoc.Impr. subkutan | |
| 29. VII. 1902 4,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan, danach | 29. VII. 1902 4,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 29. VII. 1902 4,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 29. VII. 1902 |
| Infektion: 1/2 ccm Streptok.-Bouill.-Kult. intraperitoneal | Infektion wie Tier III | Infektion wie Tier III | Infektion wie Tier III. |
| | 30. VII. 1902 1,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 30. VII. 1900 2,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 31. VII. 1902 † (48 Std. nach der Infektion) | | 31. VII. 1902 † (42 Std. nach der Infektion) | |
| | 3. VIII. 1902 † (120 Std. nach der Infektion) | | 1. VIII. 1902 † (64 Std. nach der Infektion) |
| Sektionsbefund: (von Tier III u. V) | | | |

Beide Tiere zeigten im subkutanen Gewebe starke Eiterungen; außerdem zahlreiche kleine Eiterherde in der Leber, sowie in der stark vergrößerten Milz. Auf aus den Milzen angelegten Platten wächst neben Streptokokken noch eine andere Bakterienart.

### Versuch IV.

| Tier VI. 2600 g | Tier VII. 2600 g | Tier VIII. 2700 g | Tier IX. 2700 g | Kontrolltier 2700 g |
|---|---|---|---|---|
| 29. VII. 1902 4,0 ccm P.Impr. subkutan | 29. VII. 1902 3,0 ccm P.Impr. subkutan | 29. VII. 1902 2,0 ccm P.Impr. subkutan | 29. VII. 1902 2,25 ccm P.Impr. subkutan | |
| 31. VII. 1901 4,0 ccm P.Impr. subkutan | 31. VII. 1902 4,0 ccm P.Impr. subkutan | 31. VII. 1902 4,0 ccm P.Impr. subkutan | 31. VII. 1902 3,0 ccm P.Impr. subkutan | |
| 2. VIII. 1902 4,0 ccm P.Impr. subk., danach | 2. VIII. 1902 4,0 ccm P.Impr. subkutan | 2. VIII. 1902 4,0 ccm P.Impr. subkutan | 2. VIII. 1902. 5,0 ccm P.Impr. subkutan | 2. VIII. 1902 |
| Infektion: $^{1}/_{2}$ ccm Strept.-B.-K. intraperit. | Infektion wie Tier VI | Infektion wie Tier VI | Infektion wie Tier VI | Infektion wie Tier VI |
| 3. VIII. 1902 2,5 ccm P.Impr. subkutan | 3. VIII. 1902 2,5 ccm P.Impr. subkutan | 3. VIII. 1902 2,5 ccm P.Impr. subkutan | 3. VIII. 1902. 2,5 ccm P.Impr. subkutan | 3. VIII. 1902 † (15 Std. nach der Infektion, oder früher) |
| 4. VIII. 1902 1,0 ccm P.Impr. subkutan | 4. VIII. 1902 1,0 ccm P.Impr. subkutan | | | Sektionsbefund: Zahlreiche Ekchymosen auf dem Dickdarm; starke Injektion des Dünndarmes; zahlreiche weißliche Flocken auf und zwischen den Därmen. Serösblutiges Exsudat in der Bauchhöhle. Milz stark vergrößert; Lunge blutreich. |
| 5. VIII. 1902 † (53 Std. nach d. Infektion) | 5. VIII. 1902 † (54 Std. nach der Infektion) | | | |
| | | 7. VIII. 1902 † (114 Std. nach der Infektion) | | |
| Sektionsbefund: Zahlreiche Ekchymosen auf dem Dickdarm und einzelne Eiterflöckchen auf den Därmen. Linke Lunge zeigt einige dunkelrote, sehr blutreiche Stell. Milz etwas vergrößert. Sonst keine Veränderungen. | Sektionsbefund: 3—4 erbsengroße Eiterflöckchen zwischen den Darmschlingen. Milz kaum vergrößert; sonst keine Veränderungen. | Sektionsbefund: Keine Spur von Peritonitis. Milz ganz normal. Die Blase bis zu „Knabenfaust"-größe ausgedehnt und mit trübem Harn gefüllt, der reichlich feinflockiges Sediment enthält. | 8. VIII. 1902 † (139 Std. nach der Infektion) Sektionsbefund: Schaumige seröse Flüssigkeit in den Bronchien. Auf aus der Milz gefertigten Platten wachsen keine Streptokokken. | |
| | | Diese beiden Tiere VIII und IX waren am 6. VIII. 1902 ganz munter, blieben aber durch ein Versehen den ganzen Tag direkter Sonnenbestrahlung (heißer Tag) ausgesetzt, atmeten danach rasselnd und dyspnoisch und dürfte der Tod bei den durch die Infektion geschwächten Tieren durch Lungenödem vielleicht herbeigeführt sein. | | |

Versuch V.

| Tier X. 2300 g | Kontrolltier. 2600 g |
|---|---|
| 3. VIII. 1902. Vorm. 9 Uhr 4,5 ccm Pyoc.Impr. subk.<br>Abend 6 Uhr 6,0 „ „ „ „ | |
| 4. VIII. 1902. Vorm. 10 Uhr 6,5 „ „ „ „<br>danach Infektion: $^1/_2$ ccm Streptok.-Bouill.-Kultur intraperitoneal<br>Abend 7 Uhr 2,5 ccm Pyoc.Impr. subk. | 4. VIII. 1902. Infektion wie Tier X. |
| 5. VIII. 1902. Tier sehr krank, frißt nicht | 5. VIII. 1902. † (15 Std. nach der Infektion) |
| 6. VIII. 1902. Tier noch krank, frißt wenig | |
| 7. VIII. 1902. Befinden gut, frißt wieder normal.<br>Nach 6 Wochen noch gesund; also **geheilt** von sehr schwerer Infektion. | |

Versuch VI.

| Tier XI. 2750 g. | Tier XII. 2920 g. | Tier XIII. 3000 g. | Kontrolltier. 3400 g. |
|---|---|---|---|
| 26. VIII. 1902 0,6 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 26. VIII. 1902 5,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 26. VIII. 1902 5,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 27. VIII. 1902. |
| 27. VIII. 1902 9,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan, danach | 27. VIII. 1902 10,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | 27. VIII. 1902 10,0 ccm Pyoc.Impr. subkutan | |
| Infektion: $^1/_{10}$ ccm Streptokokk-Bouillonkultur[1]) intraperit. | Infektion wie Tier XI | Infektion wie Tier XI | Infektion wie Tier XI |
| 28. VIII. 1902. Beide Tiere XI und XII anscheinend ganz gesund, aber fressen wenig; erhalten beide je 2,5 ccm Pyoc.Impr. subkutan<br>29. VIII. 1902. Beide Tiere fressen immer noch wenig<br>30. VIII. 1902. Beide Tiere etwas abgemagert, fressen heute aber wieder gut und sind offenbar ganz munter<br>Beide Tiere leben noch nach 4 Wochen, sind also **geheilt** von der schweren Infektion | | 28. VIII. 1902 † (25 Std. nach der Infektion<br>Dieses Tier hatte ein **älteres** Pyocyanase-Immunproteïdinpräparat erhalten, das wesentlich alkalischer war. Das Tier **schrie** bei der Injektion | 28. VIII. 1902. Abends ist das Tier moribund, stirbt zwischen 8 und 10 Uhr abends<br>† (**34—36** Stdn. nach der Infektion) |
| | | Sektionsprotokoll: An den Injektionsstellen stärkere Gefäßinjektion. In der Bauchhöhle wenig seröse Flüssigkeit; eine Stelle des Dickdarmes zeigt eine ca. 1 Pfennigstückgroße Hämorrhagie (offenbar Verletzung bei der Injektion!). Milz etwas vergrößert. Im Peri tonealinhalt keine, in der Milz wenig Streptokokken mikroskopisch nachweisbar, sonst keine Veränderungen | Sektionsbefund: Milz auf das Doppelte in allen Durchmessern vergrößert, schwarzbläulich, von weicher, „matschiger“ Konsistenz. In der Bauchhöhle 2 Eßlöffel blutig gefärbtes Exsudat. Eiterähnliche Flocken auf den Darmschlingen; starke Injektion der Darmgefäße. Peritoneum sammetartig, gerötet. In der Milz massenhafte Streptokokken |

Diese 6 Versuche seien in der folgenden Tabelle kurz übersichtlich zusammengestellt:

1) Eine Plattenzählung ergab in $^1/_{10}$ ccm Streptokokkenbouillonkultur, wie zur Injektion verwandt, 326000 Keime.

| Versuch No. | Infektionsmenge ccm | Tier No. | Menge des subkutan injizierten Immunproteïdins vor der Infektion | in Summa | Geheilt resp. Tod nach Stunden | Tagen | Bemerkungen | Kontrolltiere Tod nach Stunden | Tagen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | $^1/_2$ | I | 11,0 | 13,2 | **Geheilt** | | | **† 12** | $^1/_2$ |
| II | $^1/_2$ | II | 11,5 | 13,0 | **† 65** | $2^1/_2$ | Das injizierte Präparat stand die letzten Tage im warmen Raum am Licht | **† 12** | $^1/_2$ |
| III | $^1/_2$ | III | 18,5 | 18,5 | **† 48** | 2 | Der Grund der Unwirksamkeit des Präparates nicht klar; vielleicht in der Ausgangskult.? | **† 64** | $2^1/_2$ |
| | | IV | 18,5 | 19,5 | **† 120** | 5 | | | |
| | | V | 18,5 | 20,5 | **† 42** | 2 | | | |
| IV | $^1/_2$ | VI | 12,0 | 15,5 | **† 53** | $2^1/_2$ | Bei Tier VIII u. IX Tod wahrscheinlich durch Lungenödem infolge intensiver Sonnenbestrahlung | **† 15** (oder weniger) | $^1/_2$ |
| | | VII | 11,0 | 14,5 | **† 54** | $2^1/_2$ | | | |
| | | VIII | 10,0 | 12,5 | **† 114** | 5 | | | |
| | | IX | 10,25 | 12,75 | **† 139** | 6 | | | |
| V | $^1/_2$ | X | 16,5 | 20,0 | **Geheilt** | | | **† 15** | $^1/_2$ |
| VI | $^1/_{10}$ | XI | 15,0 | 17,5 | **Geheilt** | | Bei Tier VIII Verwendung eines 1) alten, 2) stärker alkalischen Präparates | **† 34—36** | $1^1/_2$ |
| | | XII | 15,0 | 17,5 | **Geheilt** | | | | |
| | | XIII | 15,0 | 15,0 | † 25 | 1 | | | |

Es ergibt sich demnach aus diesen 6 Versuchsreihen, daß von 13 mit Pyocyanaseimmunproteïdin behandelten, mit einer **sicher tödlichen** Dosis von Streptokokken intraperitoneal infizierten Kaninchen durch die Behandlung (wesentlich präventive, doch auch kurative) 4 — **i. e. 31 Proz. — geheilt,** 6 — **i. e. 46 Proz. — jedenfalls sehr erfolgreich günstig beeinflußt,** wenn auch nicht gerettet werden konnten.

Sehen wir von dem Tier XIII, das ein wohl sicher schlechtes Präparat erhielt, ab, so gestaltet sich das Verhältnis noch günstiger, nämlich 33 Proz. geheilt und 50 Proz. erfolgreich behandelt, wenn noch nicht vom Tode gerettet.

Die Ungleichmäßigkeit der Resultate dürfte wohl wesentlich ihren Grund in der bereits anfangs hervorgehobenen Verschiedenheit der einzelnen Präparate haben.

Der Gehalt der einzelnen Präparate an wirksamer Pyocyanase schwankt sehr je nach der zur Kultur verwendeten Pyocyaneus-Varietät, der Dauer der Züchtung, der Art der Nährlösung etc. Durch weitere Untersuchungen muß festgestellt werden, unter welchen Bedingungen man das wirksamste Präparat mit möglichst hohem Gehalt an Pyocyanase erhält. Die Heilresultate dürften alsdann konstanter und sicherer werden.

Jedenfalls aber dürfte hier der Hoffnung Ausdruck gegeben werden,

daß es durch weitere Vervollkommnung der Darstellungsmethode der Pyocyanase gelingen wird, ein Mittel zur erfolgreichen Behandlung der menschlichen Streptokokkeninfektionen zu gewinnen. Voraussichtlich können durch die Kombination der Pyocyanaseimmunproteïdinbehandlung mit der Anwendung von Streptokokkenimmunserum die Heilresultate noch günstiger gestaltet werden.

Daß die Vernichtung der Streptokokken in der Bauchhöhle, im Blute und in den inneren Organen durch die Auflösung derselben verursacht wird, zeigen klar und deutlich Ausstrichpräparate, die in gewöhnlicher Weise mit Peritonealexsudat, Milzsaft etc. eines trotz Pyocyanaseimmunproteïdinbehandlung am 2. oder 3. Tage nach der Infektion verendeten Kaninchens hergestellt und mit Loefflers Methylenblaulösung gefärbt wurden. In denselben kann man sehr schön alle Stufen der allmählichen Auflösung des Protoplasmas der Streptokokken verfolgen: von der starken Aufquellung der Kugeln bis zur völligen Plasmoptyse und dem Verschwinden der Ketten bis auf Kernreste, deren Anordnung noch die Größe und Rosenkranzform der ursprünglichen Kugelkette erkennen läßt.

Fig. 1. Ausstrichpräparat vom Peritonealexsudat eines nur mit Streptokokken intraperitoneal infizierten und 15 Stunden nach der Infektion verendeten Kontrollkaninchens. Durchweg normale, unveränderte Kugelketten, einzeln und in Haufen liegend. Färbung mit Loefflers Methylenblaulösung.

Fig. 2. Ausstrichpräparat vom Peritonealexsudat eines 53 Stunden nach der intraperitonealen Streptokokkeninfektion trotz Pyocyanaseimmunproteïdinbehandlung gestorbenen Kaninchens (No. VI Versuch 4). Die Abbildung zeigt verschiedene, aber durchaus nicht alle Stadien der Auflösung der Streptokokken.

(Zeiss, Apochr. 2 mm, Apert. 1,30, Komp.-Ok. 8. Vergrößerung 1 : 1000.)

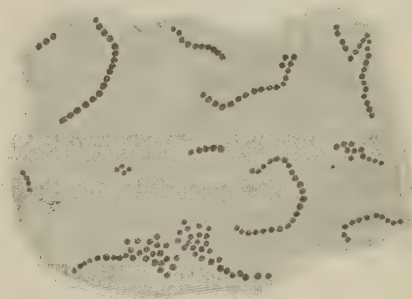


Fig. 1.

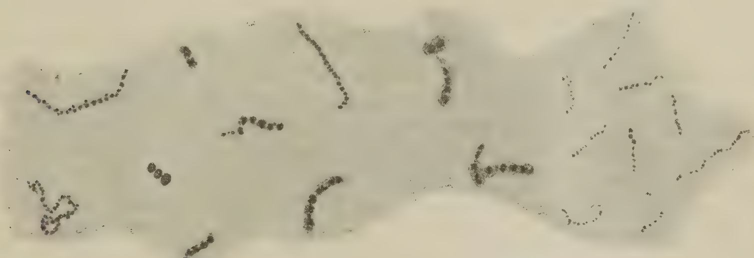


Fig. 2.

# Ueber die Herstellung eines Bakterienpräparates aus Kulturen von Tuberkelbacillen.

Von **G. Marpmann,** Vorsteher e. hygien. Labor.

Mit 1 Figur.

Bei der Erledigung der mir gestellten Aufgabe, welche durch die Ueberschrift dieser Arbeit festgelegt ist, bin ich von zwei Voraussetzungen ausgegangen, die sich kurz in folgenden Sätzen geben lassen:

Ad I. wird vorausgesetzt, daß die Bakterien in den Kulturen bei besonderer Anlage und bei Anwesenheit bestimmter Nährstoffe eine reichliche Menge von Stoffen bilden, welche entwickelungshemmend auf virulente Bakterien gleicher Art einwirken und unter Umständen das Wachsen der frisch angelegten Kultur verhindern können, das sind die Autodesinfektionsprodukte der Bakterien. Ein gleiches Verhalten finden wir nicht allein bei diesen niederen Organismen, sondern bei allen Tieren und Pflanzen. Nicht allein, daß die Ausatmungsluft von Menschen und Tieren spezifische Gifte enthält (auch in den Körpersäften, Drüsen und Organen finden sich solche Giftstoffe, die exquisit pathogene Eigenschaften besitzen), sondern auch die Pflanzen sezernieren z. B. durch die Wurzeln spezifische Stoffe aus, die schädlich wirken, wenn man das Gießwasser einer im Topf gezogenen Pflanze auffängt und zum Begießen anderer Topfpflanzen verwendet.

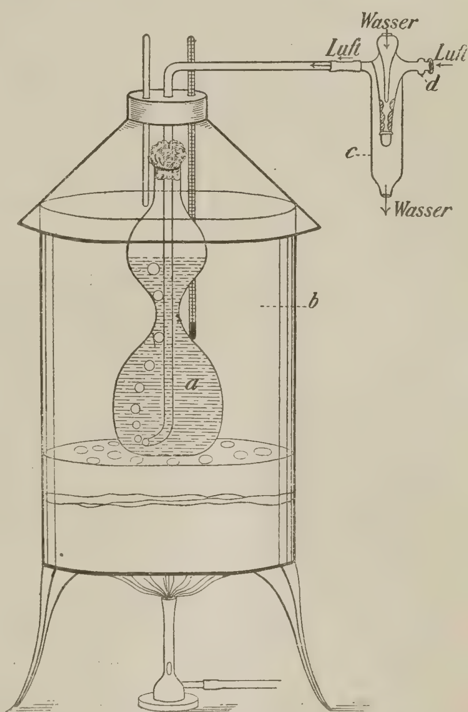
Ad II. sehen wir, daß die lebenden Organismen den Bedarf ihrer Nähr- und Baustoffe aus sehr verdünnten anorganischen Lösungen entnehmen und die chemischen Baustoffe durch die Tätigkeit der Zellen dahin führen und da ablagern, wo die spezifische Zelle die elementaren Nährstoffe benötigt. So wandert das Eisen aus den minimalen Mengen, in welchen dieses Element in der Nahrung aufgenommen wird, nach den Orten der Blutzellenbildung, der Kalk wandert nach den Knochenbildungsstätten vor, als Beweis der subtilsten Auswahl, das Fluor wandert in den Schmelz der Zähne; und so ließen sich noch viele Beweise dafür anführen, daß nicht die Massenwirkung, sondern die in höchster Potenz verdünnte chemische Substanz im lebenden Körper zu der Wirkung gelangt, durch welche das Wachsen und der Stoffwechsel der Lebewesen bedingt ist.

Wenn ich diese beiden Voraussetzungen auf ein neues Bakterienpräparat anwende, so folgt, daß die Aufgabe dadurch gelöst werden kann, daß man „die Bakterien zu einer möglichst kräftigen Kultur bringt, daß man dann aus dieser Kultur die Antikörper möglichst unverändert extrahiert und daß man endlich diese Antikörper dem infizierten Lebewesen oder dem gegen Infektion zu schützenden Lebewesen in einer entsprechenden Verdünnung inkorporiert“.

Es dürfte nach diesen Voraussetzungen wohl zu verstehen sein, weshalb die praktischen Erfolge mit den seither von den verschiedenen Experimentatoren hergestellten Produkten aus den Bakterien nicht den Erfolg gehabt haben, den man im Interesse der leidenden Menschheit wünschen möchte. Auch kann man vom biologischen Standpunkt aus begreifen, daß die direkte Injektion der Produkte in die Blutbahn eine viel zu energische Einwirkung auf die Zellfunktionen ausüben muß, während die Aufnahme der Stoffe durch den Magen und Darm viel mehr

dem natürlichen Gang der Resorption und den chemischen Prozessen des Stoffwechsels in den Zellen entsprechen dürfte. Je mehr man sich der Natur anschließt, desto größere Wirkungen wird man erzielen, wenn auch die Dauer der Wirkung eine verzögerte wird. Und somit habe ich mich der Richtung in der Medizin genähert, welche die Erfolge in den begrenzt verdünnten Arzneistoffen sucht, ohne die Extreme der Homöopathie gutzuheißen.

Zur Herstellung von Massenkulturen der Tuberkelbacillen wurden folgende Methoden angewandt: In eine gekröpfte Glasflasche *a* Fig. 1 von ca. 1 l Inhalt wurde so viel frische Kuhmilch gefüllt, daß der obere Kolben zur Hälfte gefüllt, dann ein am unteren Ende schwach gebogenes Glasrohr eingesteckt und durch einen Watteverschluß so fest gelegt, daß der Kolben gut verschlossen und die Röhre in ihrer Lage gesichert ist.




Man bringt sodann den Apparat in den Sterilisierungstopf *b* und sterilisiert hier die Milch in bekannter Weise; nachdem dieses geschehen und die Milch erkaltet, impft man mit einer Reinkultur von Tuberkelbacillen, schließt den Apparat, wie die Figur zeigt, hängt 2 Thermometer ein und verbindet die Einsatzröhre mit einer Wasserluftpumpe *c*.

Es ist nicht schwer, den Apparat auf einem Temperaturoptimum von 37,5° C tagelang zu erhalten und gleichzeitig einen schwachen Luftstrom durchzutreiben, nachdem die eintretende Luft bei *d* durch einige Filtrierröhren mit Wattefüllung vollständig keimfrei gemacht worden ist.

Der Zweck dieser Anordnung geht dahin, die Tuberkelbacillen in der ganzen Flüssigkeit zur Entwickelung zu bringen, anstatt nur auf der Oberfläche, und derselbe wird dadurch erreicht, daß die Luftblasen in den unteren Teil der Milch eintreten, hier die Milchsäule mit in die Höhe heben, so daß die Oberfläche der Flüssigkeit auf der linken Seite immer etwas höher steht als auf der rechten Seite und daß dadurch eine langsame Zirkulation der Flüssigkeit von oben nach unten stattfindet, wobei gleichzeitig die einzelnen Teilchen immer von neuem mit frischer Luft in Berührung gebracht werden.

Die Versuche wurden in der Weise begonnen, daß verschiedene Gase durchgeleitet wurden, wie Wasserstoff, Stickstoff, Sauerstoff, Stickoxydul, Kohlensäure, Kohlenoxyd, Kohlenwasserstoff- und Leuchtgas, jedoch wurde die beste Bakterienentwickelung mit der Luft erzielt. Die Milch blieb gebunden und nach 3—4 Wochen war die Bakterienentwicke-

lung auf der Höhe, so daß die ganze Flüssigkeit von Tuberkelbacillen wimmelte.

Mit dieser Kultur wurden sodann Aussaaten auf Nährböden gemacht, die aus folgenden Grundstoffen bestanden:

| | |
|---|---|
| Fleischpeptonbrühe | 1 l |
| Glycerin | 30 g |
| Kaseïn gelöst in | 50 „ |
| Natriumphosphat | 3 „ |
| Roggenmehl | 50 „ |
| Gelatine | 40 „ |
| Agar | 3 „ |

Nachdem sich ergeben hat, daß auf dem sterilisierten Nährboden die Tuberkelbacillen gut wachsen, wurden zu diesem verflüssigten Nährboden kleine Mengen anorganischer Salze zugesetzt, von denen angenommen wurde, daß sie mit den Bakterioproteïnen besondere Verbindungen eingehen können. Es wurden dann auf 100 ccm des flüssigen kompletten Nährbodens 10 ccm der Milchkultur gemischt und diese Mischung wurde als Riesenkultur in flache Glaskölbchen ausgegossen und dann gebrütet. Die Entwickelung der Tuberkelbacillen läßt sich bald auf der ganzen Oberfläche des Nährbodens erkennen, und nachdem eine starke Entwickelung vorhanden ist, wird das Substrat weiter verarbeitet.

Es fragt sich nun weiter: „wo sind die sogenannten Alexinstoffe oder diejenigen Stoffe enthalten, welche die Entwickelung der Bakterien hemmen, entweder in den Bacillenleibern oder in dem zersetzten Nährboden?“ — „welcher Art sind diese Stoffe?“ — „auf welche Weise können dieselben in den menschlichen oder tierischen Organen aufgespeichert werden und hier zur Wirkung kommen?“ — Je nach der Klarstellung dieser Fragen wird sich der Weg erkennen lassen, der zur Herstellung des wirksamen Prinzipes führen muß!

Sind die wirksamen Körper in den Bakterienzellen, so kommt man auf diejenigen Präparate, welche zuerst von Koch, Klebs u. a. hergestellt und als Tuberkulin, Tuberkulocidin, Neutuberkulin etc. in den Handel gebracht wurden.

Sind dagegen diese wirksamen Körper allein in den Ausscheidungsstoffen der Bakterien enthalten, so gelangt man zu dem Schutzserum, wie es unter dem Namen Heilserum bereits von verschiedenen Seiten bereitet wird.

Eine Ueberlegung muß zu der Erklärung führen, daß diese Schutzstoffe vorzugsweise in den Ausscheidungsprodukten der Bakterien und in den Zersetzungsprodukten der Nährstoffe enthalten sein müssen, daß zweitens diese Schutzstoffe nicht zu den Aufbaukörpern, als Proteïnen, Eiweißsubstanzen etc., sondern zu den Abbaukörpern der letzteren gehören, also zu den abgebauten Eiweißsubstanzen. Die Endprodukte des Abbaues im Stoffwechsel sind bekanntlich „Kohlensäure, Wasser, Stickstoff und einfache Stickstoff-, Wasserstoff- und Sauerstoffverbindungen“.

Jedenfalls gehören die gesuchten Körper zu den Zwischenprodukten einfacher Art, und diese finden sich zum Teil in den Bakterienzellen, zum Teil in den Nährböden aufgespeichert. Sodann ist wohl anzunehmen, daß die Körper sich durch Einwirkung chemischer Agentien leicht verändern, zersetzen und ihre spezifischen Eigenschaften verlieren, aus diesem Grunde sind den Kulturen bekannte Metallsalze zugesetzt, um eine beständigere Verbindung zu erhalten. Um nun die Kulturen

samt den Bacillen so zu zerkleinern, daß eine Extraktion in hohem Grade wahrscheinlich und eine Zersetzung möglichst vermieden wird, kamen die gesammelten Nährböden, sowol die festen als die anfangs hergestellte Milchkultur, in einen Gefrierapparat, das gebildete Eis wurde mit gut gereinigtem feinen Sand gemischt und in der Reibschale lange Zeit zerrieben, wieder zum Gefrieren gebracht und weiter zerrieben, dann mit kaltem Wasser perkoliert und dieses schwach gelb gefärbte Perkolat mit gleichen Teilen 50-proz. Alkohol gemischt. Die fertige Flüssigkeit mit einem bleibenden Alkoholgehalt von 25 Proz. dürfte nunmehr sämtliche in Wasser löslichen Stoffe enthalten, die gesucht sind, während die eiweißartigen Verbindungen aus der Grundsubstanz durch den Alkohol ausgefällt wurden. Später wurde die Flüssigkeit soweit konzentriert, daß der Alkoholgehalt annähernd 44—45 Proz. betrug.

Die Flüssigkeit gibt mit den gewöhnlichen Eiweißreagentien keine Reaktion, sehr geringe Trübungen bilden sich dagegen mit Sozojodol, sowie mit Resorcin, während Pikrinsäure gar keine Veränderung gibt und Phosphormolybdänsäure zeigt nach 24 Stunden einen sehr geringen Bodensatz.

Was nun die therapeutische Wirkung und die medizinische Anwendung der Flüssigkeit betrifft, so sei hier kurz bemerkt, daß auf meine Veranlassung in verschiedenen Gegenden Versuche von seiten praktischer Aerzte gemacht sind. Versuche in Krankenhäusern und Kliniken sollten erst dann gemacht werden, wenn eine gewisse Unterlage gegeben war, und diese Unterlage kann nach meiner Ansicht derjenige Arzt besser geben, der die Patienten, Familienverhältnisse, Anlagen, Vererbungen etc. kennt, als der Kliniker eines großen Krankenhauses. Die Flüssigkeit wurde den Tuberkulösen in Dosen von 5 Tropfen täglich dreimal in einem Weinglas voll Wasser gegeben.

Die Gründe für diese Anwendungsweise, sowie die Erfolge der Behandlung dürften nicht hierher gehören und werden in Kürze in einer medizinischen Zeitschrift veröffentlicht werden. Es war nur Zweck, hier auf die neueren Anordnungen der Versuche kurz hinzuweisen.

Leipzig, Januar 1903.

---



# Lysoform, Bacillol und Sublamin in wässeriger Lösung als Händedesinficientien nach Vorbehandlung der Hände mit Alkohol (Analogie mit der Fürbringerschen Methodik).

[Aus dem Institute für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg, Abteilung für Hygiene.]

Von Dr. **Engels**, Assistenten am hygienischen Institute.

Die neueste, die Fürbringersche Methode der Händedesinfektion behandelnde Arbeit ist wohl die von Danielsohn und Hess[1]), welch

---

1) Danielsohn und Hess, Alkohol und Sublamin als Händedesinfektionsmittel. (Dtsche med. Wochenschr. 1902. No. 37.)

letztere im Auftrage Fürbringers und angeregt durch die verdienstvollen Untersuchungen Krönig-Blumbergs sowie Paul und Sarweys nochmals der strittigen Frage näher getreten sind und durch Vornahme vergleichender Experimentaluntersuchungen ein begründetes Urteil zu gewinnen suchten.

Schon im Jahre 1888 hatte Fürbringer[1]) den Beweis erbracht, daß die Einschiebung des Alkohols, und zwar des wasserhaltigen — gewöhnlich wurde 80—90-proz. Alkohol in Anwendung gebracht — zwischen Heißwasser-Seifenwaschung der Hände einerseits und der Applikation des Desinficiens andererseits die Keimfreimachung der Haut wesentlich unterstütze, weil, wie Fürbringer anfangs annahm, die Entfettung der Haut durch den Alkohol dem folgenden Desinficiens leichter den Zutritt in die tieferen Schichten der Haut gestatte.

Die gemeinsame Arbeit Fürbringers und Freyhans aus dem Jahre 1897[2]) brachte nun einen neuen Gesichtspunkt bezüglich dieser Methodik und ihrer Wirkungsweise insofern, als der Haupteffekt des zwischengeschobenen Alkohols nicht in der Entfettung der Haut allein, sondern besonders in seiner spezifisch baktericiden Eigenschaft gefunden wird. Diese Anschauung vertritt auch die Danielsohn-Hesssche Arbeit.

„Die hohe Bewertung des Alkohols als Händedesinfektionsmittel erfährt jedoch durch unsere Untersuchungen eine erneute Bestätigung.“

Insbesondere galt es, zu untersuchen, ob die Desinfektion mit dem Quecksilbersulfat-Aethylendiamin, also dem Sublamin, nach Krönig und Blumberg (3-promill. wässerige Lösung) einen Vorzug vor der Fürbringerschen Alkoholeinschiebung habe. Danielsohn und Hess glauben auf Grund ihrer Versuche diese Frage verneinen zu müssen und weisen die Behauptung Paul und Sarweys, daß die Sublaminmethode ungefähr dasselbe leiste wie die Fürbringersche, zurück und bekämpfen vor allem die Blumbergsche Anschauung aufs entschiedenste, daß die Sublaminwassermethode mehr erziele als die Fürbringer'sche Anordnung.

Im Archiv f. Hygiene. Bd. XLV. Heft 3 u. 4 habe auch ich[3]) einige experimentelle Arbeiten über Händedesinfektion erscheinen lassen, welche sich mit Lysoform, Bacillol und mit Sublamin beschäftigen. Ich habe, mich auf die zu einem objektiven Schluß berechtigenden Versuche stützend, den Nachweis erbracht, daß die drei eben bezeichneten neueren Desinficientien, in ca. 99-proz. Alkohol gelöst, eine bedeutend intensivere Desinfektionskraft auf und in der Haut der Hände entfalten als die entsprechenden wässerigen Lösungen.

Da fast stets die 2-proz. (Lysoform- und Bacillol-) resp. die 2-promill. (Sublamin-)Konzentration zu den besten Erfolgen führte, so habe ich mich bei den weiteren Untersuchungen auf die Prüfung dieser Lösungen beschränkt.

---

1) Fürbringer, Untersuchungen und Vorschriften über die Desinfektion der Hände des Arztes etc. Wiesbaden 1888.

2) Fürbringer und Freyhan, Neue Untersuchungen über die Desinfektion der Hände. (Dtsche med. Wochenschr. 1897. No. 6.)

3) Engels, Bakteriologische Prüfung desinfizierter Hände mit Hilfe des Paul Sarweyschen Kastens, nach Desinfektion durch Heißwasseralkohol, Seifenspiritus und Kombination von Alkohol und Formaldehyd. — Bakteriologische Prüfung desinfizierter Hände mit Benutzung des Paul Sarweyschen Kastens nach Desinfektion mit Bacillol. — Bakteriologische Prüfung desinfizierter Hände mit Hilfe des Paul Sarweyschen sterilen Kastens nach Desinfektion mit Quecksilbersulfat-Aethylendiamin (Sublamin).

Tabelle 1.

Bakteriologische Prüfung desinfizierter Hände mit Hilfe des Paul Sarweyschen sterilen Kastens nach Desinfektion mit Alcohol absolutus und darauffolgender 2-proz. Lysoformwasserlösung (analog Fürbringer).

□□□ = steril, ⋯⋯ = wenig Keime (1—20), ≪⊙≫ = viele Keime (20—80), ▬ = sehr viele Keime (über 80).

| Laufende No. | Versuchsperson | Teile der Hände, die auf ihren Keimgehalt geprüft wurden | Vor der Desinfektion: Keimgehalt der Hände: trocken | Vor der Desinfektion: Keimgehalt der Hände: nach 5 Min. langem Wasch. m. steriler Bürste u. steriler Seife in steril. heiß. Wasser | Nach der Desinfektion: Behandeln der Hände mit dem Desinficiens mit Hilfe eines sterilen Flanelllappens | 10 Minuten langes Baden der desinfizierten Hände in 42° warmem sterilen Wasser: Keimgehalt des Badewassers | 10 Minuten langes Baden …: Keimgehalt der gebadeten Hände | 5 Minuten langes Scheuern der Hände in 42° warmem sterilen Sandbade: Keimgehalt des Sandbades | 5 Minuten langes Scheuern …: Keimgehalt der gescheuerten Hände | Abschaben der Hände mit sterilem scharfen Löffel: rechte Hand | Abschaben …: linke Hand |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Dr. Engels | Handoberfläche | ≪⊙≫ | ⋯⋯ | □□□ | | ⋯⋯ 2 | | ≪⊙≫ | | |
| | | Nagelfalz | ≪⊙≫ | ▬ | ≪⊙≫ | ▬ | ⋯⋯ 1 9 4 | ≪⊙≫ | ≪⊙≫ | □□□ | □□□ |
| | | Unternagelraum | ▬ | ▬ | ≪⊙≫ | | □□□ | | ≪⊙≫ | | |
| 2 | „ „ | Handoberfläche | ⋯⋯ | ≪⊙≫ | ≪⊙≫ | | ⋯⋯ 3 | | ≪⊙≫ | | |
| | | Nagelfalz | ⋯⋯ | ≪⊙≫ | ⋯⋯ 2 1 | ▬ | ≪⊙≫ | ▬ | ▬ | ▬ | ≪⊙≫ |
| | | Unternagelraum | ▬ | ▬ | ≪⊙≫ | | ⋯⋯ 1 1 4 | | ▬ | | |
| 3 | „ „ | Handoberfläche | ⋯⋯ | ▬ | □□□ | | ⋯⋯ 5 2 | | ⋯⋯ 1 | | |
| | | Nagelfalz | ⋯⋯ | ≪⊙≫ | □□□ | ⋯⋯ 1 5 8 | ⋯⋯ 1 | ≪⊙≫ | ⋯⋯ 1 | ⋯⋯ 5 2 | ⋯⋯ 2 |
| | | Unternagelraum | ≪⊙≫ | ▬ | ⋯⋯ 1 | | ⋯⋯ 2 | | ≪⊙≫ | | |
| 4 | „ „ | Handoberfläche | ⋯⋯ | ⋯⋯ | ⋯⋯ 2 | | □□□ | | □□□ | | |
| | | Nagelfalz | ⋯⋯ | ⋯⋯ | □□□ | ≪⊙≫ | ⋯⋯ 5 | ≪⊙≫ | ⋯⋯ 4 | □□□ | ⋯⋯ 3 |
| | | Unternagelraum | ≪⊙≫ | ≪⊙≫ | ⋯⋯ 1 Staph. | | ⋯⋯ 2 | | □□□ | | |
| 5 | „ „ | Handoberfläche | ▬ | ▬ | ⋯⋯ 1 | | □□□ | | ⋯⋯ 1 | | |
| | | Nagelfalz | ▬ | ▬ | ⋯⋯ 1 Staph. | ≪⊙≫ | □□□ | ≪⊙≫ | ⋯⋯ 9 5 | ⋯⋯ 5 1 | ⋯⋯ 5 4 |
| | | Unternagelraum | ▬ | ▬ | □□□ | | ⋯⋯ 1 | | ⋯⋯ 5 4 | | |

Tabelle 2.

Bakteriologische Prüfung desinfizierter Hände mit Hilfe des Paul Sarweyschen sterilen Kastens nach Desinfektion mit Alcohol absolutus und darauffolgender 2-proz. Bacillolwasserlösung (analog Fürbringer).

□□□ = steril, ⋯⋯ = wenig Keime (1—20), ≪⊙≫ = viele Keime (20—80), ▬▬ = sehr viele Keime (über 80).

| Laufende No. | Versuchsperson | Teile der Hände, die auf ihren Keimgehalt geprüft wurden | Vor der Desinfektion: Keimgehalt der Hände: trocken | Vor der Desinfektion: Keimgehalt der Hände: nach 5 Min. langem Wasch. m. steriler Bürste u. steriler Seife in steril. heiß. Wasser | Nach der Desinfektion: Behandeln der Hände mit dem Desinficiens mit Hilfe eines sterilen Flanelllappens | 10 Minuten langes Baden der desinfizierten Hände in 42° warmem sterilen Wasser: Keimgehalt des Badewassers | 10 Minuten langes Baden …: Keimgehalt der gebadeten Hände | 5 Minuten langes Scheuern der Hände in 42° warmem sterilen Sandbade: Keimgehalt des Sandbades | 5 Minuten langes Scheuern …: Keimgehalt der gescheuerten Hände | Abschaben der Hände mit sterilem scharfen Löffel: linke Hand | Abschaben …: rechte Hand |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Dr. Engels | Handoberfläche | ⋯⋯ | ▬▬ | ⋯⋯ 1 | | □□□ | | ⋯⋯ 3 | | |
| | | Nagelfalz | ⋯⋯ | ▬▬ | ⋯⋯ 1 | ⋯⋯ 5 | ⋯⋯ 1 | ▬▬ | ⋯⋯ 4 | ⋯⋯ 3 | ⋯⋯ 6 |
| | | Unternagelraum | ⋯⋯ | ▬▬ | □□□ | | ⋯⋯ 1 | | ⋯⋯ 5 | | |
| 2 | „ „ | Handoberfläche | ≪⊙≫ | ▬▬ | ⋯⋯ 1 | | ⋯⋯ 8/1 | | ⋯⋯ 8/5 | | |
| | | Nagelfalz | ▬▬ | ▬▬ | ⋯⋯ 1 | ▬▬ | ▬▬ | ▬▬ | ≪⊙≫ | ⋯⋯ 4 | ≪⊙≫ |
| | | Unternagelraum | ▬▬ | ▬▬ | ▬▬ | | ⋯⋯ 3 | | ≪⊙≫ | | |
| 3 | „ , | Handoberfläche | ⋯⋯ | ▬▬ | ⋯⋯ 1 8/2 | | ⋯⋯ 2 | | ⋯⋯ 2/1 | | |
| | | Nagelfalz | ⋯⋯ | ▬▬ | ⋯⋯ 1 | ⋯⋯ 9/7 | ⋯⋯ 1 Staph. | ≪⊙≫ | □□□ | ⋯⋯ 2/1 | □□□ |
| | | Unternagelraum | ⋯⋯ | ▬▬ | ⋯⋯ 3 | | ⋯⋯ 7/3 | | ▬▬ | | |
| 4 | „ „ | Handoberfläche | ⋯⋯ | ⋯⋯ | ⋯⋯ 1 | | □□□ | | ⋯⋯ 1 | | |
| | | Nagelfalz | ⋯⋯ | ≪⊙≫ | ⋯⋯ 2 Staph. | □□□ | ⋯⋯ 1 | ⋯⋯ 7 Staph. | ⋯⋯ 2 | □□□ | ⋯⋯ 2 |
| | | Unternagelraum | ▬▬ | ▬▬ | □□□ | | ⋯⋯ 1 | | □□□ | | |
| 5 | „ „ | Handoberfläche | ⋯⋯ | ⋯⋯ | □□□ | | □□□ | | □□□ | | |
| | | Nagelfalz | ⋯⋯ | ⋯⋯ | □□□ | ⋯⋯ 6/2 | ⋯⋯ 1 | □□□ | ⋯⋯ 2 | ⋯⋯ 1 | ⋯⋯ 3/1 |
| | | Unternagelraum | ⋯⋯ | ≪⊙≫ | □□□ | | □□□ | | □□□ | | |

Tabelle 3.

Bakteriologische Prüfung desinfizierter Hände mit Hilfe des Paul Sarweyschen sterilen Kastens nach Desinfektion mit Alcohol absolutus und darauffolgender 2-promill. Sublaminwasserlösung (analog Fürbringer).

□□□ = steril, ⋯⋯ = wenig Keime (1—20), <<⊙>> = viele Keime (20—80), ■■■ = sehr viele Keime (über 80).

| Laufende No. | Versuchsperson | Teile der Hände, die auf ihren Keimgehalt geprüft wurden | Vor der Desinfektion: Keimgehalt der Hände: trocken | Vor der Desinfektion: Keimgehalt der Hände: nach 5 Min. langem Wasch. m. steriler Bürste u. steriler Seife in steril. heiß. Wasser | Nach der Desinfektion: Behandeln der Hände mit dem Desinficiens mit Hilfe eines sterilen Flanelllappens | 10 Minuten langes Baden der desinfizierten Hände in 42° warmem sterilen Wasser: Keimgehalt des Badewassers | 10 Minuten langes Baden …: Keimgehalt der gebadeten Hände | 5 Minuten langes Scheuern der Hände in 42° warmem sterilen Sandbade: Keimgehalt des Sandbades | 5 Minuten langes Scheuern …: Keimgehalt der gescheuerten Hände | Abschaben der Hände mit sterilem scharfen Löffel: rechte Hand | Abschaben …: linke Hand |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Dr. Engels | Handoberfläche | ⋯⋯ | ■■■ | □□□ | | □□□ | | □□□ | | |
| | | Nagelfalz | <<⊙>> | ■■■ | □□□ | □□□ | □□□ | ⋯⋯ 1 | ⋯⋯ 1 | ⋯⋯ 1 | ⋯⋯ 2 |
| | | Unternagelraum | ■■■ | ■■■ | □□□ | | □□□ | | ⋯⋯ 3 | | |
| 2 | „ „ | Handoberfläche | ⋯⋯ | ⋯⋯ | ⋯⋯ 1 | | □□□ | | □□□ | | |
| | | Nagelfalz | ⋯⋯ | ⋯⋯ | ⋯⋯ 1 | ⋯⋯ 2 | □□□ | □□□ | ⋯⋯ 3 | □□□ | □□□ |
| | | Unternagelraum | ⋯⋯ | ⋯⋯ | □□□ | | ⋯⋯ 1 | | ⋯⋯ 106 | | |
| 3 | „ „ | Handoberfläche | <<⊙>> | <<⊙>> | ⋯⋯ 3 / ⋯⋯ 1 | | ⋯⋯ 1 | | ⋯⋯ 2 / ⋯⋯ 1 | | |
| | | Nagelfalz | ⋯⋯ | <<⊙>> | □□□ | □□□ | □□□ | □□□ | ⋯⋯ 1 | □□□ | ⋯⋯ 1 Staph. |
| | | Unternagelraum | ⋯⋯ | <<⊙>> | ⋯⋯ 1 | | □□□ | | □□□ | | |
| 4 | „ „ | Handoberfläche | ⋯⋯ | <<⊙>> | □□□ | | ⋯⋯ 1 | | □□□ | | |
| | | Nagelfalz | ⋯⋯ | <<⊙>> | □□□ | □□□ | □□□ | □□□ | □□□ | □□□ | ⋯⋯ 1 |
| | | Unternagelraum | ⋯⋯ | <<⊙>> | □□□ | | □□□ | | □□□ | | |
| 5 | „ „ | Handoberfläche | ⋯⋯ | <<⊙>> | □□□ | | □□□ | | □□□ | | |
| | | Nagelfalz | <<⊙>> | ■■■ | □□□ | □□□ | □□□ | □□□ | □□□ | ⋯⋯ 1 | □□□ |
| | | Unternagelraum | ■■■ | <<⊙>> | □□□ | | □□□ | | ⋯⋯ 2 | | |

Es war nun noch von mir die Frage offen und unbeantwortet geblieben, wie sich die Wirkung der geprüften 2-proz. resp. 2-promill. alkoholischen Lösungen gestalten würde, wenn man in Analogie mit der Fürbringerschen Methodik zunächst den Alkohol allein auf die Bakterien der Haut einwirken und darauf die Imprägnierung der Haut mit der 2-proz. resp. 2-promill. wässerigen Lösung folgen ließe. Diese Versuche wurden in der Abteilung für Hygiene des hiesigen Institutes von mir angestellt und sollen hier näher besprochen werden.

Die Versuchsanordnung lehnt sich genau an die früher (l. c.) eingehend beschriebene und von Paul und Sarwey eingeführte Methode mit Hilfe des sterilen Kastens an. Die Keimabnahme geschah mit kleinen Hölzchen, die in sterilem Wasser abgespült und samt letzterem zu Agarplatten verarbeitet wurden. Die Platten blieben bei Bruttemperatur von 37° aufbewahrt und 8 Tage in Beobachtung.

Zu erwähnen habe ich noch, daß als Alkohol unser ca. 99-proz. selbstverständlich zur Verwendung kommen mußte, da derselbe mir bisher stets auch als Lösungsmittel gedient hatte. Nicht also kam stärker wasserhaltiger Alkohol, wie bei den oben erwähnten Autoren, zur Anwendung.

In allen Fällen wurden die einzelnen Teile der Hände mit dem Alkohol mit Rücksicht auf die Danielsohn-Hesssche Versuchsanordnung 3 Minuten lang mit Hilfe eines Flanelllappens gehörig traktiert, nachdem eine 5 Minuten lange Waschung der Hände mit steriler Seife und steriler Bürste in sterilem heißen Wasser stattgefunden hatte. Die Applikation des auf den Alkohol folgenden Desinficiens währte regelmäßig 5 Minuten. Meine Versuche selbst sind in den folgenden Tabellen enthalten.

Als Ergebnis ist zunächst zu erwähnen, daß nach der Waschung mit Seife und Bürste fast stets mehr Keime entnommen werden konnten als von der trockenen Hand.

Das Resultat nach der Desinfektion ist folgendes:

| | Alkohol + 2 Proz. Lysoform-Wasser: | Alkohol + 2 Proz. Bacillol-Wasser: | Alkohol + 2 Proz. Sublamin-Wasser: |
|---|---|---|---|
| **1) Nach der Desinfektion mit Alkohol + Desinficiens.** | | | |
| Sterile Platten | : in 5 Fällen = 33,3 Proz. | in 5 Fällen = 33,3 Proz. | in 11 Fällen = 73,3 Proz. |
| Wenige Keime | : „ 6 „ = 40,0 „ | „ 9 „ = 60,0 „ | „ 4 „ = 26,7 „ |
| Viele Keime | : „ 4 „ = 26,7 „ | „ 0 „ = 0,0 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |
| Sehr viele Keime | : „ 0 „ = 0,0 „ | „ 1 „ = 6,7 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |
| **2) Nach Waschung der Hände.** | | | |
| **a) Keimzahl der Badewässer:** | | | |
| Sterile Platten | : in 0 Fällen = 0,0 Proz. | in 1 Fall = 20,0 Proz. | in 4 Fällen = 80,0 Proz. |
| Wenige Keime | : „ 1 Fall = 20,0 „ | „ 3 Fällen = 60,0 „ | „ 1 Fall = 20,0 „ |
| Viele Keime | : „ 2 Fällen = 40,0 „ | „ 0 „ = 0,0 „ | „ 0 Fällen = 0,0 „ |
| Sehr viele Keime | : „ 2 „ = 40,0 „ | „ 1 Fall = 20,0 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |
| **b) Keimgehalt der gebadeten Hände:** | | | |
| Sterile Platten | : in 4 Fällen = 26,7 Proz. | in 4 Fällen = 26,7 Proz. | in 12 Fällen = 80,0 Proz. |
| Wenige Keime | : „ 10 „ = 66,7 „ | „ 10 „ = 66,7 „ | „ 3 „ = 20,0 „ |
| Viele Keime | : „ 1 Fall = 6,7 „ | „ 0 „ = 0,0 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |
| Sehr viele Keime | : „ 0 Fällen = 0,0 „ | „ 1 Fall = 6,7 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |
| **3) Nach dem Scheuern der Hände.** | | | |
| **a) Keimgehalt des Sandbades:** | | | |
| Sterile Platten | : in 0 Fällen = 0,0 Proz. | in 1 Fall = 20,0 Proz. | in 4 Fällen = 80,0 Proz. |
| Wenige Keime | : „ 0 „ = 0,0 „ | „ 1 = 20,0 „ | „ 1 Fall = 20,0 „ |
| Viele Keime | : „ 4 „ = 80,0 „ | „ 1 „ = 20,0 „ | „ 0 Fällen = 0,0 „ |
| Sehr viele Keime | : „ 1 Fall = 20,0 „ | „ 2 Fällen = 40,0 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |

b) Keimgehalt der gescheuerten Hände:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Sterile Platten | : in 2 Fällen = 13,3 Proz. | in 4 Fällen = 26,7 Proz. | in 8 Fällen = 53,3 Proz. |
| Wenige Keime | : „ 6 „ = 40,0 „ | „ 8 „ = 53,3 „ | „ 7 „ = 46,7 „ |
| Viele Keime | : „ 5 „ = 33,3 „ | „ 2 „ = 13,3 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |
| Sehr viele Keime | : „ 2 „ = 13,3 „ | „ 1 Fall = 6,7 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |

4) Abschabsel der Hände.

a) Rechte Hand:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Sterile Platten | : in 2 Fällen = 40,0 Proz. | in 1 Fall = 20,0 Proz. | in 3 Fällen = 60,0 Proz. |
| Wenige Keime | : „ 2 „ = 40,0 „ | „ 4 Fällen = 80,0 „ | „ 2 „ = 40,0 „ |
| Viele Keime | : „ 0 „ = 0,0 „ | „ 0 „ = 0,0 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |
| Sehr viele Keime | : „ 1 Fall = 20,0 „ | „ 0 „ = 0,0 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |

b) Linke Hand:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Sterile Platten | : in 1 Fall = 20,0 Proz. | in 1 Fall = 20,0 Proz. | in 2 Fällen = 40,0 Proz. |
| Wenige Keime | : „ 3 Fällen = 60,0 „ | „ 3 Fällen = 60,0 „ | „ 3 „ = 60,0 „ |
| Viele Keime | : „ 1 Fall = 20,0 „ | „ 1 Fall = 20,0 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |
| Sehr viele Keime | : „ 0 Fällen = 0,0 „ | „ 0 Fällen = 0,0 „ | „ 0 „ = 0,0 „ |

Die vorstehenden Zahlen zeigen deutlich, daß das Resultat der Fürbringerschen Methodik im ganzen kein sehr zufriedenstellendes ist. Wie ein Blick auf die Tabelle lehrt, gibt in dieser Form die 2-proz. Sublaminwasserlösung mit Einschiebung des Alkohols die besten Erfolge.

Staphylokokken wuchsen in allen drei Versuchsreihen; am geringsten war die Zahl beim Sublamin. Zur Erklärung der Tabellen sei hinzugefügt, daß die unterste von 2 Zahlen neben einem Felde jedesmal die gefundene Anzahl von Staphylokokkenkolonieen bedeutet. Wo auf einer Platte als einzigste Kolonie eine Staphylokokkenkolonie gefunden wurde, ist dieses besonders mit dem Namen bezeichnet.

Noch deutlicher wird der Ausschlag werden, wenn wir die Gesamtprozentzahlen der in jeder der drei Versuchsreihen erhaltenen Anzahl „steriler“ Platten, der Patten mit „wenigen“, „vielen“ und „sehr vielen“ Keimen von der Desinfektion an berechnen. Dann ergibt sich für das Desinficiens:

Alkohol ca. 99-proz. + 2 Proz. Lysoform-Wasser:

| | |
|---|---|
| Sterile Platten | : in 14 Fällen = 21,5 Proz. |
| Wenige Keime | : „ 28 „ = 43,1 „ |
| Viele Keime | : „ 17 „ = 26,2 „ |
| Sehr viele Keime | : „ 6 „ = 9,1 „ |

Für Alkohol ca. 99-proz. + 2 Proz. Bacillol-Wasser:

| | |
|---|---|
| Sterile Platten | : in 17 Fällen = 26,2 Proz. |
| Wenige Keime | : „ 38 „ = 58,5 „ |
| Viele Keime | : „ 4 „ = 6,2 „ |
| Sehr viele Keime | : „ 6 „ = 9,1 „ |

Für Alkohol ca. 99-proz. + 2 ‰ Sublamin-Wasser:

| | |
|---|---|
| Sterile Platten | : in 44 Fällen = 67,7 Proz. |
| Wenige Keime | : „ 21 „ = 32,3 „ |
| Viele Keime | : „ 0 „ = 0,0 „ |
| Sehr viele Keime | : „ 0 „ = 0,0 „ |

Die drei geprüften Desinficientien folgern sich in ihrer Wirkungskraft demnach wie folgt:

Alkohol + 2 ‰ Sublamin-Wasser
Alkohol + 2 % Bacillol-Wasser
Alkohol + 2 % Lysoform-Wasser

Gleichzeitig beweisen die Erfolge jedoch, daß eine Auseinanderreißung der früher von mir geprüften und als wirksam befundenen alkoholischen Lösungen des Sublamins, des Bacillols und des Lysoforms bei der Händedesinfektion in keiner Weise empfohlen werden kann.

Wenn man die eben mitgeteilten Zahlen vergleicht mit denjenigen, die ich in meinen früheren Arbeiten als Resultat der Desinfektion mit alkoholischen Lösungen gewonnen habe, so sind die Prozentzahlen für erhaltene „sterile" Platten in allen drei Versuchsreihen bedeutend zurückgegangen, am meisten beim Lysoform, etwas weniger beim Bacillol und Sublamin.

Beim Alkohol + der 2 ‰ Sublamin-Wasserlösung steht der Desinfektionseffekt zwischen dem der wässerigen Sublamin-Lösung und dem der alkoholischen. Hinter der desinfektorischen Wirkung des 2 ‰ Sublamin-Alkohols bleibt diejenige des Alkohols + der 2 ‰ wässerigen Sublamin-Lösung weit, fast um 25 Proz., zurück.

Ein ganz ähnliches gilt von den nach der Fürbringerschen Methodik geprüften Bacillol- und Lysoformlösungen. Hier ist die Differenz zwischen den Resultaten dieser Versuche und denen der alkoholischen Lösungen noch viel auffallender. Die Erfolge nähern sich, wie beim Sublamin, so noch viel mehr beim Bacillol und Lysoform, denen der entsprechenden wässerigen Lösungen. Auch die hohe Zahl von Platten mit „vielen" und sogar „sehr vielen" Keimen, wie sie bei den Versuchen mit den wässerigen Lösungen zu verzeichnen war, finden wir hier wieder.

Die Zwischenschiebung des Alkohols zwischen Seifenwaschung der Hände und der Applikation des Desinficiens in wässeriger Lösung hat demnach zweifellos in allen drei Versuchsreihen eine Erhöhung der Anzahl „steriler" Platten gegenüber den rein wässerigen Lösungen allein zur Folge gehabt; jedoch bleibt diese nach dem Fürbringerschen Muster ausgeführte Desinfektion in ihrer keimtötenden Wirkung sowohl beim Sublamin als auch beim Bacillol und beim Lysoform noch weit hinter dem bakteriziden Effekt der entsprechenden alkoholischen Lösungen zurück.

Der besseren Uebersicht halber und zur Illustrierung dessen, was ich soeben gesagt habe, lasse ich noch eine kleine Tabelle folgen, in welcher die Resultate sowohl der vorliegenden Versuchsreihen als auch der hierher gehörigen, in früheren Arbeiten niedergelegten (l c) nochmals in Kürze registriert werden sollen.

In der vorletzten Reihe der Tabelle wird statt des 2-proz. das 3-proz. Lysoform-Wasser aufgeführt, da nur Versuche mit dieser Lösung von mir angestellt worden sind.

| Desinficiens | Sterile Platten Proz. | Wenige Keime Proz. | Viele Keime Proz. | Sehr viele Keime Proz. |
|---|---|---|---|---|
| 2 ‰ Sublamin-Alkohol | 92,3 | 7,7 | — | — |
| 2 ‰ Sublamin-Wasser | 43,1 | 44,6 | 7,7 | 4,6 |
| ca. 99-proz. Alkohol + 2 ‰ Sublamin-Wasser (Fürbringer) | 67,7 | 32,3 | — | — |
| 2 % Bacillol-Alkohol | 64,6 | 35,4 | — | — |
| 2 % Bacillol-Wasser | 10,8 | 46,1 | 30,8 | 12,3 |
| ca. 99-proz. Alkohol + 2 % Bacillol-Wasser (Fürbringer) | 26,2 | 58,5 | 6,2 | 9,1 |
| 2 % Lysoform-Alkohol | 70,7 | 29,2 | — | — |
| 3 % Lysoform-Wasser | 3,8 | 38,5 | 46,2 | 11,5 |
| ca. 99-proz. Alkohol + 2 % Lysoform-Wasser (Fürbringer) | 21,5 | 43,1 | 26,2 | 9,1 |

Ich halte mich auf Grund meiner Versuche zu dem Schluß berechtigt, daß die rein alkoholischen (ca. 99-proz. Alkohol) Lösungen des Subla-

mins, Bacillols und Lysoforms einen bedeutend größeren Desinfektionserfolg für die Hände garantieren als die wässerigen Fluida mit der Einschiebung des Alkohols (ca. 99-proz.) nach Fürbringerscher Vorschrift.

Ob der Tatsache, daß Fürbringer bei seinen Versuchen meist 80—90-proz. Alkohol benutzt hat, eine wesentliche Bedeutung für einen eventuellen besseren Effekt zukommen würde, soll hier nicht weiter untersucht werden.

---



# Die Differentialdiagnose des Typhusbacillus vom Bacterium coli auf Grund der Säurebildung.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Prof. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **Alfred Wolff**, Assistenten am Institute.

Die im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 10 erschienene Arbeit von Rudolf Zielleczky über „Biochemische und differentialdiagnostische Untersuchungen einiger Bakterien mittels Phenolphtaleïnnährböden“ veranlaßt mich, ganz kurz über einige Versuche zu berichten, die ich vor ca. $1^1/_2$ Jahren angestellt, aber nicht veröffentlicht hatte.

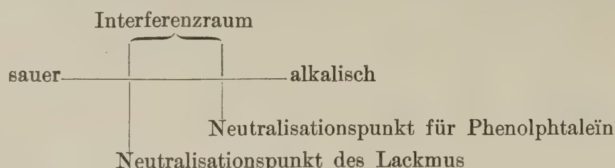
Zielleczky verwendet eine schwache Phenolphtaleïnlösung (0,8 bis 0,7 ccm von auf $^1/_{20}$ verdünnter $^1/_2$-proz. Lösung) als Zusatz zu den gebräuchlichen Nährmitteln, um speziell die alte Frage der bequemen Differentialdiagnose zwischen Bact. typhi und coli zu lösen.

Die sicherste Methode der Differenzierung, die alle Anforderung erfüllt, haben wir ja in der Pfeifferschen Reaktion, demnächst in der Agglutination mit Immunserum in sehr hohen Verdünnungen, die jedoch, wie neuere Untersuchungen ergeben haben, für virulente, frisch aus dem infizierten Organismus gezüchtete Stämme versagt, da nur bei schwachen Verdünnungen Agglutination eintritt. Diese Methode ist jedoch für den klinischen Gebrauch zu unbequem, oder es werden die Schwierigkeiten überschätzt, jedenfalls vergeht jetzt kein Jahr, in dem nicht neue Methoden zur Differenzierung angepriesen werden.

Sehr richtig erscheint mir in der Arbeit von Zielleczky die Befürwortung des Thalmannschen Vorschlages, an Stelle des schwankenden Begriffes „neutral“ die Bezeichnung einzuführen „lackmusneutral, phenolphtaleïnneutral“ etc.. Gleichzeitig mit Thalmann, der diese Beobachtung für die in der Bakteriologie gebräuchlichen Nährböden machte, hatte ich für die pleuritischen Ergüsse festgestellt (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XLII. 1901. Heft 5 u. 6), daß nicht nur die Begriffe: lackmusneutral und phenolphtaleïnneutral nicht identisch sind, sondern daß bei Lackmus die Transsudate zum Teil als alkalisch erscheinen, während sie Phenolphtaleïn gegenüber sauer reagieren. Versuche mit Alizarinrot zeigen wieder andere Verhältnisse, Titrierungen mit 2 verschiedenen Indikatoren ergeben niemals gleiche Resultate.

Die Begriffe basisch, neutral, sauer sind keine absoluten, sondern nur relative, sie bezeichnen eine Proportion, das Verhältnis des zu prüfenden Stoffes zu einem bekannten, dem sogenannten Indikator.

So kann ich also die Angabe Z.s bestätigen, daß Phenolphtaleïn säureempfindlicher ist; besser stellt man den Vorgang graphisch dar.




Ich prüfte seiner Zeit die Säurebildung von Typhus- und Coli-Stämmen an den verschiedenen Indikatoren, Lackmus, Methylorange, Alizarinrot und auch Phenolphtaleïn. Ich kann im wesentlichen die Resultate Z.s bestätigen. Im allgemeinen bildet Coli schneller und intensiver Säure, wie der Typhusbacillus. Wenn ich jedoch von einer Publikation und speziell von der Empfehlung der Methode als differentialdiagnostisches Kriterium absah, so geschah es, weil mir die Methode zur Differentialdiagnose nicht geeignet erschien.

Wir haben oben gesehen, daß die Unterscheidung von Typhus- und Coli-Bacillen unter allen Umständen möglich ist; was fehlt, ist eine bequeme und absolut sichere Methode für den Kliniker.

Dieses Postulat scheint mir diese Säuredifferenzierungsmethode nicht zu erfüllen; ganz abgesehen davon, daß mir die verschiedenen Coli- und Typhusstämme ein sehr verschiedenes Säurebildungsvermögen gezeigt haben, das noch dazu ganz vom Nährsubstrate abhängig war, indem z. B. Bact. coli in Gelatine nur bei Milchzuckerzusatz Säure bildete, beruht diese Methode noch dazu nicht auf qualitativen, sondern auf rein quantitativen Verhältnissen. Beide Bakterienarten bilden Säure, Coli etwas früher; man ist also gezwungen, zwischen 9 und 15 Stunden nach Anlegung der Kultur wiederholt die Färbung zu kontrollieren, ein Zeitraum, der unter den Verhältnissen der Klinik meist in die Nacht fällt; nach 24 Stunden haben meist beide Bakterienarten genug Säure gebildet, um Entfärbung zu zeigen.

Es kann gar nicht geleugnet werden, daß oftmals mit Hilfe der Säurebildung eine Diagnose gestellt werden kann, wie berechtigt es jedoch von mir war, die Methode zu differentialdiagnostischen Zwecken abzulehnen, ergibt sich z. B. aus Tabelle 6 von Zielleczky selbst.

| Kultur | nach 5, | 7, | 9, | 11, | 15, | 24 | Stunden |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A. Coli II 5ccm Bouill. | unverändert | entfärbt | stark entfärbt | Zunahme der Entfärbung | nur noch ganz schwach rosa gefärbt und trüb | ganz entfärbt | |
| B. Typhus II 5ccm Bouill. | do. | etwas heller | Entfärbg. nimmt zu | Entfärbg. nimmt zu | leicht entfärbt u. klar | ganz entfärbt u. klar | |

Ich sehe darin eine große Parallelität beider Säurebildungen, wie ich sie selbst mehrmals beobachtete und die durch eine etwas eigenartige Nomenklatur von Z. verdeckt wird. Es ist sonst nicht zu verstehen, wie die Bouillon nach 7 Stunden entfärbt, nach 9 Stunden stark entfärbt, nach 15 Stunden nur noch ganz schwach rosa sein soll, nachdem inzwischen die „Entfärbung“ zugenommen hatte.

Bei derartigen Versuchen muß auch stets die Entfärbung infolge von Reduktionsprozessen ausgeschaltet werden; tritt beim Schütteln mit Luft Färbung auf, hat eine Reduktion vorgelegen.

Für den Gebrauch des Klinikers die beste und handlichste Methode ist immer noch die Anwendung des Neuralrots. Man bringt 1—2 Tropfen einer 1—2-proz. Lösung in 10 ccm Agar oder Traubenzuckeragar und überschichtet diesen mit Agar oder Gelatine, nachdem man eine Stichkultur angelegt hat. Rothberger, nach dem die Methode meist benannt wird, hatte eine weniger handliche Schüttelmixtur angefertigt und infolgedessen war die Methode nicht viel zur Anwendung gelangt und fand sich in den Lehrbüchern nicht erwähnt[1]). Der Luftabschluß ist kein nebensächlicher Teil, da mir meine Versuche ergeben haben, daß man bei Luftzutritt Differentialgleichungen zwischen der Reduktionskraft der betreffenden Bakterien und dem konkurrierenden Oxydationsvermögen der Luft erhält, so daß eine Reduktion nur dann eintritt, wenn die vitale Reduktionsfähigkeit der Bakterien eine große ist. Infolge dieses Uebelstandes hat Rothberger auch nur stets die erste Reduktionsstufe des Neutralrotes, die Fluorescenz, nicht die völlige Entfärbung erzielt. Neutralrot wird reduziert durch die Anaërobier, durch die Coli-Gruppe und durch den Bac. faecalis alcaligenes von Petruschky. Letztere Reduktion ist von Wichtigkeit, weil dieser Bacillus infolge seiner mangelnden Säurebildung von Bact. typhi nicht unterschieden werden kann.

Die ganz mühelose, leicht anwendbare Neutralrotmethode bildet meiner Ansicht nach die notwendige Ergänzung zu der Conradi-Drigalskischen Plattenmethode ebenso wie zu der Piorkowskischen Methode, indem die hier verdächtig erscheinenden Kolonieen auf diese Weise weiter geprüft werden können. Es wundert mich stets von neuem, daß diese handliche Methode sich so langsam in klinischen Kreisen Eingang verschafft. Es liegt dies wahrscheinlich an dem Mißtrauen, das die Kliniker mit Recht neuen typhusdifferentialdiagnostischen Methoden entgegenbringen; doch ist die Methode von allen, wenn wir vom Pfeifferschen Phänomen und der spezifischen Agglutination absehen, wohl die sicherste; der einzige bekannte Nachteil ist, daß die Methode kein Plattenverfahren erlaubt und daß die Diagnose erst nach 24 bis 48 Stunden nach dem Plattengießen zu stellen ist.

---

1) In der neuesten Auflage von Abels Handbüchlein hat jetzt auch der Neutralrotagar seine Stelle gefunden.

# Züchtung der Trichophytiepilze in situ.

## Entgegnung auf die Antwort des Herrn Dr. Plaut in Hamburg.

Von Dr. **Karl Hollborn** in Leipzig.

In Bd. XXXII. 1902. No. 8/9 dies. Centralbl. kritisiert Herr Dr. Plaut in Hamburg meine in Bd. XVII. p. 356 und Bd. XVIII. p. 47 u. 108 dies. Centralbl. erschienene Veröffentlichung über einen Fall von Alopecia areata.

Hierzu sehe ich mich veranlaßt, das Folgende richtig zu stellen.

Die in Bd. XVII. p. 356 beschriebene, von Herrn Dr. Plaut gerügte Methode, die Haare auf dem Objektträger anzufeuchten, wurde von mir anfangs benutzt. Sie ist nicht so zu verstehen, daß die Haare auf dem Objektträger völlig mit Wasser überschwemmt wurden. Jene befanden sich auf sterilen Objektträgern in feuchten Kammern. Nach vorsichtigem Aufheben des Deckels wurde mittels sterilen, zur Oese geformten Platindrahtes nur eine Spur sterilen Wassers an die Haare gebracht.

Später erkannte ich als vorteilhafter, die Haare einfach in der feuchten Kammer aufzubewahren. Dieses Verfahren erwähnte ich in Bd. XVIII. p. 109, allerdings nur kurz, in der Meinung, daß diese kurze Notiz das Verfahren genau kennzeichnen würde. Besser wäre es jedenfalls gewesen, hierbei besonders darauf hinzuweisen, daß die von mir zuerst benutzte Methode nicht so vorteilhaft sei, trotzdem ich auch hier Luftmycelien des Pilzes erhielt.

Herr Dr. Plaut scheint zu bezweifeln, daß es mir gelungen ist, Eumyceten bei Area Celsi herauszuzüchten.

Hierzu bemerke ich, daß die von mir seiner Zeit angefertigten mikroskopischen Präparate, ferner Petrische Schalen mit an den Haaren entwickeltem Pilze, sowie Reinkulturen des letzteren, damals der dermatologischen Gesellschaft in Berlin und der naturforschenden Gesellschaft zu Rostock vorgelegen haben, ferner, daß Herr Prof. Dr. Martius in Rostock, welcher den betreffenden Fall von Alopecie behandelte, einen Teil meiner Präparate seiner Sammlung eingefügt hat.

Weitere Fälle von Haarkrankheiten, die mir zum Nachweise von Haarpilzen überwiesen wurden, habe ich auf die in Bd. XVIII. p. 109 beschriebene Weise untersucht.

Ich besitze unter anderem noch ein Anerkennungsschreiben von Herrn Sanitätsrat Dr. Walter in Güstrow über mikroskopische Präparate eines in feuchter Kammer an erkrankten Haaren entwickelten Trichophyton tonsurans, welchen ich bei einem mir von jenem Herrn überwiesenen Falle gefunden hatte.

Bei Trichorhexis nodosa wurden auch von anderen Autoren Pilze gefunden und isoliert, z. B. von Hodara, Juhel-Renoy und Lion, Behrend etc.

Meinen diesbezüglichen Versuch, auf Grund dessen ich mir noch

kein abschließendes Urteil erlaubte, hatte ich nur beiläufig erwähnt, und etwaige Wiederholungsversuche empfohlen.

Reinkulturen des von mir bei Alopecia areata gefundenen Pilzes (Trichophyton radens), sowie des aus den Knötchen von Barthaaren isolierten Mucor habe ich seiner Zeit auch an Králs bakteriologisches Laboratorium in Prag eingesandt.

---

*Nachdruck verboten.*

# Ueber Färbbarkeit der Streptotricheen nach Methoden der Tuberkelbacillenfärbung.

[Aus der I. medizinischen Klinik der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Hofrat Prof. Přibram.]

Von **Ernst Fuchs.**

In der jüngst erschienenen Publikation unter dem Titel „Die Aetiologie der Diphtherie" [1]) weist Zupnik zum erstenmale auf die frappante Beziehung zwischen Krankheitsgruppen und natürlichen Bakteriengruppen hin. Sie findet ihren Ausdruck darin, daß „klinisch und pathologisch-anatomisch verwandte Krankheitsprozesse durch Mikroorganismen erregt werden, die in dieselbe natürliche Gruppe gehören, und umgekehrt: Angehörige derselben natürlichen Bakteriengruppe erzeugen sowohl bei Menschen wie Tieren Krankheitsbilder, die in ihren Erscheinungen, klinischen und anatomischen, einander sehr ähnlich sind" [2]). Das Zustandekommen dieses gegenseitigen Verhältnisses kann nach der Ansicht des oben genannten Autors nur dadurch erklärt werden, daß Bakterien, welche in dieselbe natürliche Familie gehören, chemisch ähnliche Stoffwechselprodukte erzeugen.

Für diese letztere Ansicht gelang es Zupnik kurze Zeit darauf, einen experimentellen Beweis zu erbringen: Auf der letzten Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Karlsbad berichtete er über positive Tuberkulinreaktion bei Tieren, welche mit verschiedenen Arten von säurefesten Bacillen und des ferneren mit verschiedenen Arten einer natürlichen Mikrobenfamilie, die im System den Säurefesten am nächsten steht, nämlich der Streptotricheen, infiziert worden waren. In dem erwähnten Vortrage sind auch die Kriterien, welche eine Vereinigung verschiedener Mikroorganismen in dieselbe natürliche Familie gestatten, scharf präzisiert. Es muß dieser Gruppierung nicht die Willkür, sondern eine exakte naturwissenschaftliche Basis zu Grunde liegen, es müssen, ähnlich wie in der Botanik und Zoologie, die betreffenden, in eine natürliche Familie zu vereinigenden Arten eine große Zahl von Merkmalen, die sich sowohl auf die mikroskopischen und tinktoriellen als auch kulturellen

---

1) Prager med. Wochenschr. 1902. No. 30—34.
2) Sonderabdruck p. 45.

und biologischen Eigenschaften erstrecken, gemeinsam haben.

Diese Erwägungen, sowie vornehmlich der Umstand, daß einzelne Streptotricheenarten eine positive Tuberkulinreaktion geben, mußte die Vermutung wachrufen, daß die letzteren mit der ihnen so nahe verwandten natürlichen Familie der säurefesten Bakterien außer den bereits bekannten auch die am meisten in die Augen springende Eigenschaft, i. e. die elektive Färbbarkeit nach spezifischen Methoden gemeinsam haben werden.

In der Literatur liegen in dieser Richtung bereits einige Angaben vor: Die älteste stammt von Nicolle[1]). In einer Fußnote der eben zitierten Arbeit bemerkt er kurz, daß außer dem Tuberkel- und Leprabacillus noch die Streptothrix farcinica und der Erreger der in Peru endemischen Verrugakrankheit nach den Tuberkelbacillenmethoden färbbar sind. Ferner hat Berestnew[2]) bei drei Streptothrix-Arten: farcinica, Eppingeri und Rivieri-Sabrazès Säurefestigkeit gefunden.

Die genaueste Untersuchung in dieser Richtung stammt von Feistmantel[3]). Er führt den Nachweis, daß die Streptothrix farcinica ganz konstant, sowohl in Präparaten von Kulturen auf verschiedenen Nährböden, wie in Aufstrichpräparaten des Eiters mit ihr infizierter Tiere exquisit säure- und alkoholfest ist. Ferner finden wir in der letztgenannten Arbeit die einer mündlichen Mitteilung entstammende Angabe über eine „hochgradig säurefeste Streptothrix-Art (Dezy),“ die im Pasteurschen Institut gezüchtet wird. Schließlich haben vor kurzer Zeit Birt und Leishman[4]) den Befund einer säurefesten Streptothrix in der Lunge eines, wie es klinisch angenommen wurde, an Tuberkulose erkrankten Mannes mitgeteilt.

Diese bei den erwähnten 5 Streptothrix-Arten beobachtete färberische Eigentümlichkeit wird als Ausnahme gedeutet. Es neigt zu dieser Ansicht Feistmantel[5]), indem er sagt: „Dem Ergebnisse meiner Untersuchungen zufolge muß ich die Str. farcinica als verbindendes Mittelglied zwischen die Gruppe der Actinomyceten (Streptotricheen) und die säurefesten Pilze rangieren“; es spricht ferner diese Ansicht Neukirch in seiner jüngst erschienenen Monographie „Ueber Strahlenpilze“[6]) direkt aus: „Die für die Actinomyceten üblichen Färbungen sind die Gramsche, die Ziehl-Neelsensche und Sporenfärbuag. Sie verhalten sich gegen die erste positiv, gegen die beiden letzteren in der Regel negativ.“ (p. 49.)

Durch die eben angeführten positiven Angaben, die sich alle, was wir besonders betonen möchten, nur auf eine färberische Eigentümlichkeit der 5 genannten Streptothrix-Arten, nämlich nur auf ihre Resistenz gegen Einwirkung mineralischer Säuren beziehen, wurden wir in unserer Annahme noch mehr bestärkt. Sie ging, wie oben des näheren ausgeführt ist, dahin, daß sowohl die Säurefestigkeit wie im all-

---

1) Pratique des colorations microbiennes. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. IX. 1895.)
2) Dissertation Moskau, 1897 (cit. von Feistmantel).
3) Centralbl. f. Bakt. etc. 1902. No. 10.
4) A new acid-fast Streptothrix, pathogenic to man and animals. (Journ of Hyg. 1902.) Ref. in: Zeitschr. f. Tuberkuloss u. Heilstättenwesen. Bd. IV. p. 87.
5) l. c. p. 443.
6) Straßburg 1902.

gemeinen die Färbbarkeit nach allen jenen Methoden, die als spezifisch für Tuberkelbacillen angesehen werden, eine allgemeine Eigenschaft der Streptotricheen bilden werde.

Was nun die Strahlenpilze selbst anbelangt, so ist ihre Benennung und ihre Stellung im System noch immer strittig. Kruse[1]) faßt sie unter dem Namen „Streptothricheen“ zusammen. Lachner-Sandoval[2]), dem wir ein sehr genaues, unter der Leitung von J. Forster und E. Levy ausgeführtes Studium dieser Gruppe verdanken, schlägt nicht mit Unrecht den Namen „Actinomyces“ vor, und weist auf ihre nahe Verwandtschaft mit den säurefesten Bakterien und Diphtheriebacillen hin. Lehmann und Neumann acceptieren die Benennung Lachner-Sandovals, gehen aber insofern weiter, als sie unter dem Namen „Actinomycetes“ folgende 3 Gruppen vereinigen: 1) Corynebakterien L. u. N. (Loefflersche Gruppe Zupniks), 2) Mykobakterien L. u. N. (die säurefesten Bakterien) und 3) die Actinomycetes Harz. Wir haben, ohne jedoch für die Systematik etwas präjudizieren zu wollen, die Benennung „Streptotricheen“ gewählt, weil sie heute die meistverbreitete ist und weil ferner unter dem Namen „Actinomycetes“ nach Lehmann und Neumann auch ganz andere natürliche Bakteriengruppen zu verstehen sind. Im übrigen gestatten wir uns, was Einzelheiten und Literaturangaben anbelangt, auf die oben erwähnten Monographieen von Lachner-Sandoval und Neukirch hinzuweisen.

Für die Untersuchung haben wir folgende Arten herangezogen:

1) a. Streptothrix hominis Prag,
   b. „ „ Upsala, gezüchtet von Petterson,
   c. „ „ gezüchtet von Affanasieff, welche, nach den bisherigen Untersuchungen zu schließen, bloß Varietäten einer und derselben Art darstellen dürften.
2) Streptothrix Löwenstein, eine von Dr. Löwenstein aus dem Unterkiefer eines aktinomykotischen Rindes gezüchtete Art, welche auf Agar in Form von einzelnen roten Kolonieen mit hellem Randsaume wächst und von allen übrigen sicher total verschieden ist.
3) Streptothrix Eppinger,
4) „ caprae,
5) „ Rivieri-Sabrazès,
6) „ farcinica,
7) „ madurae,
8) „ pluricolor,
9) „ Gabritschewski,
10) „ alba Berestnew,
11) „ graminearum Berestnew,
12) „ Birt und Leishman,
13) „ Petterson bei Untersuchungen über Fleischfäulnis gezüchtet, } Wachstumsoptimum bei 30° C.
14) „ aus Gartenerde von Doc. Bail gezüchtet }

1) Flügge, Die Mikroorganismen. Bd. II. 1896.
2) Ueber Strahlenpilze. Straßburg 1898.

Ferner wurde zur Kontrolle jeder Färbemethode gleichzeitig mit den in Rede stehenden Streptotricheen je ein Präparat von Säugetiertuberkulosekultur angefertigt.

Zur Anwendung gelangten folgende Methoden[1]):

1) Ziehl-Neelsen: Langsames Erwärmen in Ziehlschem Karbolfuchsin bis zur Entwickelung starker Dämpfe; nach erfolgter Abkühlung Abtrocknen zwischen Filtrierpapier. Entfärbung: einmaliges Eintauchen in 25-proz. Schwefelsäure; Behandlung mit 80-proz. Alkohol so lange, als Farbwolken abgehen, in der Regel mindestens 5 Minuten; wässern. Nachfärbung mit Loefflers Methylenblau.

2) Müllers Methode: Färbung wie vorher. Entfärbung durch 30 Minuten in frisch dargestellter 5-proz. wässeriger Lösung von Wasserstoffsuperoxyd (30-proz., chemischrein von E. Merk), weitere Behandlung mit Alkohol, wie Ziehl-Neelsen.

3) Müllers Methode: wie die eben geschilderte, nur wurde in einer frischen, filtrierten 5-proz. wässerigen Lösung von Kaliumperkarbonat 15 Minuten lang entfärbt.

4) Kühnes[2]) Methode: Färbung: 15 Minuten in kaltem Ziehlschen Karbolfuchsin; abtrocknen zwischen Filtrierpapier. Entfärbung: 30—35 Sekunden in frisch bereiteter, filtrierter, 2-proz. wässeriger Lösung von salzsaurem Anilin; abspülen in Wasser; weitere Entfärbung in 80-proz. Alkohol. Nachfärbung mit Loefflerschem Methylenblau.

5) Dorsets[3]) Methode: Färbung in einer konzentrierten Lösung von Sudan III, in 80-proz. Alkohol durch 10 Minuten. Entfärbung in 70-proz. Alkohol; Nachfärbung mit Loefflerschem Methylenblau. Diese letzte Methode fand in der Tabelle keine Aufnahme, weil sich bei Anwendung derselben sämtliche untersuchten Streptothrix-Kulturen, wie Reinkulturen von Tuberkelbacillen und solche anderer säurefester Bakterien total negativ verhielten. Dasselbe negative Resultat haben wir mit dieser Methode auch bei Färbungen von Präparaten, die mit Streptotricheen infizierten Meerschweinchen entstammten, zu verzeichnen. Auch Feistmantel konnte es nicht gelingen, bei Anwendung von Sudan III die Str. farcinina zu tingieren. Dieses negative Verhalten von Kulturen und Material aus dem Tierkörper ist um so merkwürdiger, als uns der Nachweis von Tuberkelbacillen im Sputum mit Sudan III immer leicht gelang.

Zur Färbung gelangten Kulturen, die auf Chapoteaut-Peptonagar, Chapoteaut-Peptonglycerin-(4-proz.)Agar und Chapoteaut-Peptonbouillon herangezüchtet wurden.) Alle Kulturen waren 17 Tage alt (37° C).

Bezüglich der Einzelheiten gestatten wir uns, auf die beiliegende Tabelle hinzuweisen. Kurz zusammengefaßt, gestaltet sich das Resultat dieser Untersuchungen folgendermaßen:

Unter den 14 Streptotricheenarten sind es nicht weniger als 10, die sich nach den bis jetzt nur für Tuberkelbacillen als spezifisch an-

---

1) Mit Rücksicht auf eventuelle Nachprüfung führen wir bei jeder das geübte Verfahren des genaueren an.

2) Diese Methode wurde von Kühne ausgearbeitet, Borrel mündlich mitgeteilt und von letzterem im Jahre 1893 in seiner Publikation: Tuberc. pulm. experimentale. (Annal. de l'Inst. Pasteur, T. VII. p. 602 veröffentlicht.)

3) Ref. Baumgartens Jahresber. 1899. p. 437.

gesehenen Färbemethoden tingieren; die elfte behielt den Farbstoff nur teilweise und die drei übrigen waren vollständig negativ.

Außer den Färbungen aus der Reinkultur wurden auch solche aus dem Tierkörper vorgenommen. Es wurden Meerschweinchen mit Streptothrix farcinica und Str. caprae intraperitoneal geimpft und nach erfolgtem Tode der Tiere Präparate aus ihren Organen nach den oben dargelegten Methoden gefärbt. Bei sämtlichen Tieren ergaben diese Färbungen wieder ein positives Resultat, wobei die vorgefundenen Mikroorganismen bei den mit Str. caprae infizierten Tieren morphologisch den Tuberkelbacillen vollkommen ähnlich waren, während bei den mit Str. farcinica geimpften Tieren ausschließlich ziemlich lange, rot gefärbte Fäden vorgefunden wurden.

Bei Durchsicht der Tabelle fällt es im ersten Moment auf, daß auch dort, wo die Färbung ein positives Resultat ergab, meist nicht alle Individuen den Farbstoff behalten hatten, sondern daß sich neben solchen eine mehr oder weniger große Anzahl anderer befindet, welche den Kontrastfarbstoff angenommen haben. Diese Erscheinung enthält aber mit Rücksicht darauf, daß viele Angehörige der Gruppe der schlechtweg sogenannten säurefesten Bacillen selbst, das gleiche Verhalten zeigen, wovon wir uns zu wiederholten Malen bei Färbungen der Sammlungskulturen dieser Bakterien überzeugen konnten, nichts Befremdendes.

Auf Grund der geschilderten Untersuchungen glauben wir zu dem Ausspruche berechtigt zu sein, daß die Färbbarkeit der Streptotricheen nach Methoden, welche bis jetzt bloß für den Tuberkelbacillus und die ihm nächstverwandten Arten als spezifisch angesehen waren, eine allgemeine Eigenschaft der Streptotricheen bildet.

Während Zupnik durch seine Untersuchung über die Tuberkulinreaktion nachweisen konnte, daß diesen beiden, einander nahestehenden, natürlichen Mikroorganismenfamilien eine spezifische Reaktion gemeinsam ist, erweitert die vorliegende Arbeit ihre verwandtschaftlichen Beziehungen dahin, daß auch die mikrochemischen Eigenschaften bei beiden sehr ähnlich sind. Beide diese Momente bilden, jedes in einer anderen Richtung, einen Beweis dafür, daß die von Zupnik vorausgesagten, unter die Gattungsmerkmale einzureihenden Gruppenreaktionen[1]) natürlicher Bakterienfamilien tatsächlich vorhanden sind.

Dem hochverehrten Herrn Hofrat Prof. Přibram erlaube ich mir für die allseitige Unterstützung meinen innigsten Dank zum Ausdruck zu bringen.

---

1) In einem am 23. Jan. 1903 im Verein deutscher Aerzte in Prag gehaltenen Vortrage hat Zupnik an Stelle von „natürliche Bakteriengruppe" die Bezeichnung „Bakteriengattung" — an Stelle von „Gruppenreaktionen" — „Gauungsreaktionen" gesetzt (cf. Sitzungsberichte).

| No. | Art | Nährboden | Ziehl-Neelsen | Müller; $H_2O_2$ | Müller; Kaliumperkarbonat 5 % | Kühne; salzsaur. Anilin |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | a) Str. hominis Prag | Kartoffelglycerinagar | | a) Viele Fäden haben deutlich roten Ton | | |
| | b) Str. hominis Upsala Petterson | Kartoffelglycerinagar | Blaue Fäden, manche mit rotem Schimmer | b) wie a | θ | θ |
| | c) Str. hominis Affanasieff. | Chapoteautagar | | c) θ | | |
| 2 | Str. Löwenstein | Chapoteautagar | θ | θ | θ | Zahlreiche blaue, teilweise nur schwachblaue Fäden; zahlreiche davon enthalten rote Körner und stäbchenförmige Gebilde |
| 3 | Str. Eppinger | Chapoteautagar | θ | | | θ |
| | | Kartoffelglycerinagar | Hauptmasse blau, zahlreiche isolierte rote | Hauptmasse blau, mäßig, zahlreiche rote | θ | Stäbchenform, fast alles rot |
| 4 | Str. caprae | Kartoffelglycerinagar | Stäbchenform; Hauptmasse leuchtend rot, daneben einzelne blaue | wie Ziehl-Neelsen | Ziemlich zahlreiche rote, aber spärlicher als Ziehl-Neelsen. Hauptmasse blau | zahlreiche blaue und rote |
| 5 | Str. Rivieri-Sabrazès | Kartoffelglycerinagar, Chapoteautbouillon | Hauptmasse blau, zahlreiche rote Stäbchen | wie Ziehl-Neelsen | θ | Hauptmasse blau, einzelne spärlich, winzige rote |
| 6 | Str. farcinica | Kartoffelglycerinagar | Bacillenform mit starker Plasmolyse, zahlreiche blaue, daneben rote | Plasmolyse stärker, Hauptmasse blau; sehr zahlreiche schwarzrote Körner an Chlamydosporen von Coppen John erinnernd | Neben zahlreichen blauen viele rote | Fast alle rot, daneben auch blaue |

| No. | Art | Nährboden | Ziehl-Neelsen | Müller; $H_2O_2$ | Müller; Kaliumperkarbonat 5 % | Kühne; salzsaur. Anilin |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 7 | Str. madurae | Kartoffelglycerinagar | θ | Hauptmasse blau; in den blauen Fäden schwarzrote, runde und stäbchenförmige Gebilde | θ | θ |
| 8 | Str. pluricolor | Kartoffelglycerinagar | Neben zahlreichen blauen Fäden stark rote, auch zahlreiche nur rosa gefärbte | Hauptmasse blau; in einzelnen Fäden sehr feine stäbchenförmige Gebilde und sehr zahlreiche rote Körner | θ | Neben zahlreichen blauen ziemlich viele stark rote Fäden |
| 9 | Str. Gabritschewski | Kartoffelglycerinagar | Hauptmasse der Fäden blau, einzelne deutlich rot, andere enthalten einzelne rote bacillenartige oder kokkoide Gebilde | θ | θ | θ |
| 10 | Str. alba Berestnew | Kartoffelglycerinagar | θ | Im Innern blauer Fäden sehr zahlreiche bacillenartige und runde, rote Gebilde | θ | θ |
| 11 | Str. graminearum Berestnew | Chapoteautagar Kartoffelglycerinagar | θ | θ | θ | θ |
| 12 | Str. Birt u. Leishman | Kartoffelglycerinagar | Hauptmasse blau, spärlich rote | wie Ziehl-Neelsen | Hauptmasse blau, einzelne rote | θ |
| 13 | Str. Petterson, Fleischfäulnis | Kartoffelglycerinagar | θ | θ | θ | θ |
| 14 | Str. Bail | Kartoffelglycerinagar | θ | θ | θ | θ |
| 15 | Säugetiertuberkulose | Kartoffelglycerinagar | alle leuchtend rot | Neben zahlreichen leuchtend roten, viele kaum rosarote | alle rot | alle rot |

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

# Inhalt.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

# Ein Beitrag zur Kenntnis der Kapselbacillen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien (Prof. Weichselbaum).]

Von Dr. **Milan Sachs.**

Im nachstehenden sei über einen Bacillus berichtet, welcher der Gruppe der Kapselbacillen angehört, jedoch von den bisher beschriebenen Arten in vieler Beziehung wesentlich abweicht und der eigentümlichen Stellung wegen, die ihm unter diesen Bakterien zukommt, einiges Interesse beanspruchen darf. Nur von diesem Gesichtspunkte aus erfolgt nachstehende Mitteilung.

Derselbe fand sich im Eiter einer Pyonephrose, welche bei der am 6. Oktober 1901 vorgenommenen Sektion einer 75-jährigen Frau gefunden wurde.

Die anatomische Diagnose des Falles (Obduzent Prof. Albrecht) lautete: Linkseitige Pyonephrose mit Atrophie der Niere, Konkrementbildung und chronische, zum Teil cystische Ureteritis, Hypertrophie der rechten Niere. Hochgradige allgemeine Anämie mit fettiger Degeneration des Herzmuskels, der Leber und der Nieren. Atheromatose der Aorta und der peripheren Arterien, Fettherz bei allgemeiner Fettleibigkeit; akutes Lungenödem, krupöse Pneumonie im Oberlappen der rechten Lunge im Stadium der grauen Hepatisation, frische fibrinöse Pleuritis, Oedem des Gehirnes (Urämie).

Deckglaspräparate des Eiters der linkseitigen Pyonephrose zeigten im allgemeinen mäßig viel Bakterien, vorwiegend gramnegative Bacillen von verschiedener Form: teils sind es kurze und etwas plumpe Stäbchen, teils längere, ebenso dicke oder dünnere Formen, vereinzelt sieht man auch längere, schlanke ungegliederte Fäden. Die Enden aller dieser Formen sind abgerundet. Die Fäden sind zumeist leicht gebogen, aber auch die kürzeren Formen sind nicht immer gerade, sondern verhältnismäßig häufig leicht gekrümmt. An einzelnen Formen, sowohl kurzen, wie auch längeren, ist eine deutlich sichtbare gefärbte Kapsel vorhanden. Viele dieser längeren Kapselformen und besonders die Fäden sind ungleichmäßig gefärbt, wie vakuolisiert. Die Bacillen sind meist einzeln, nur selten zu zweit gelagert.

Außerdem sind spärlich Kokken zu finden, die, meist zu zweit gelagert, sich bei Anwendung der Gramschen Methode nicht entfärbten.

Agarplattenstrichkulturen ergaben neben nicht sehr reichlichen Kolonieen eines Bacillus der Coli-Gruppe in ziemlich großer Zahl aus gramnegativen Bacillen bestehende Kolonieen, welche durch ihre eigentümliche Beschaffenheit auffielen, weiter verfolgt wurden und Gegenstand dieser Mitteilung sind.

## Morphologisches und kulturelles Verhalten.

Der gefundene Bacillus stellt ein ziemlich vielgestaltiges Stäbchen dar; es erscheint bald gerade, bald leicht gebogen, von wechselnder Länge, zumeist etwa 3—5mal so lang als breit, häufig auch in kürzeren oder längeren ungegliederten Fäden, seltener zeigt es kürzere oder gar kokkenförmige Formen. Die Fäden sind meist mehr oder weniger stark gebogen, vielfach S-förmig oder schlangenförmig gewunden. Die Breite dieser Formen ist eine verschiedene; sie sind im allgemeinen schmäler als der Friedländer-Bacillus; die Fadenformen erscheinen zumeist dünner.

Eine konstante Lagerung der Bacillen zueinander ist in den Präparaten nicht nachweisbar.

Alle diese Formen finden sich in beiläufig gleicher Menge in den Kulturen auf den verschiedenen Nährböden.

Die Bacillen färben sich ziemlich leicht mit allen gebräuchlichen Anilinfarben, doch sieht man häufig Verschiedenheiten in der Intensität der Färbung: neben gleichmäßig intensiv gefärbten Formen findet man auch schwach tingierte Bacillen und Fäden, oft mit etwas stärker gefärbten Umrissen; zuweilen sind ungleichmäßig gefärbte Formen zu finden, sowie solche, die gänzlich ungefärbte Stellen aufweisen.

Bei Anwendung der Gramschen Methode werden die Bacillen immer und gleichmäßig entfärbt.

Nicht selten sieht man in den Präparaten aus verschiedenen Kulturen breite, schwach gefärbte Hüllen um die Bacillen und Fäden; manchmal sind diese Kapseln so intensiv gefärbt, daß der Bacillus verdeckt bleibt, anderemale sind wieder nur die Konturen der Kapseln gefärbt, die Kapsel selbst und der Bacillus verbleiben ungefärbt. Fast stets ist zwischen den Bacillen eine fädig-körnige, sich schwach färbende Masse, oft in großer Menge, zu sehen.

Sporen waren niemals zu finden. Eigenbewegung fehlt.

In Agarplattenstrichkulturen (24 h. 37° C) sind die Kolonieen von kreisrunder Form, halbkugelig erhaben, glänzend, durchscheinend, zuweilen fast durchsichtig, wie von glasigem Aussehen und nur im Zentrum leicht opak und von grauer Farbe; dabei zeigen sie häufig eine so ausgeprägt gallertige Konsistenz, daß beim Abstreifen mit der Oese die Kolonieen wohl ihre Form unter dem Drucke der Oese verändern, jedoch sogleich wieder in dieselbe zurückkehren, wobei nichts an der Oese haften bleibt. Nur mit Mühe läßt sich durch wiederholtes Abstreifen eine solche Kolonie mit der Oese vom Nährboden abheben, sie bleibt dann meist in toto als glasig durchscheinende gallertige Masse an der Oese haften. — Werden die Kolonieen älter (also nach 48 h. und später), so nimmt mit zunehmender Größe die stark gallertige Beschaffenheit derselben ab, sie werden mehr viscid und gewinnen zugleich eine etwas flachere Form; solche Kolonieen zeigen zumeist eine opakere grauweißliche, im durchfallenden Lichte hellbräunliche zentrale Partie, von welcher sich eine breite periphere Zone mehr oder weniger scharf abgrenzt, welche die fast durchsichtige Beschaffenheit der beschriebenen gallertigen Kolonieformen zeigt. An noch älteren Kolonieen kann mitunter ein grauweißliches Zentrum, eine breite, dasselbe bandförmig umgebende graue, durchscheinende Zone und eine glasig aussehende, durchsichtige, beiläufig gleich breite periphere Partie unterschieden werden, alle meist ziemlich scharf voneinander abgesetzt. — Eine mehr viscide Beschaffenheit und ein im Zentrum weniger durchsichtiges, graues bis grauweißliches Aussehen der Kolonieen findet sich übrigens auch in jüngeren Kulturen, doch konnten aus diesen bei Weiterimpfung immer wieder Kolonieformen von der oben beschriebenen gallertigen Konsistenz erhalten werden. Auch konnten Uebergänge zwischen diesen Formen der Agarkulturen beobachtet werden.

Es gelang durch Verwendung einerseits wasserreichen, andererseits wasserarmen Agars bei gleicher Ausgangskultur teils flachere, viscide, teils gallertige Kolonieformen zu erhalten.

Was die Größe der Kolonieen betrifft, so zeigen sich, abgesehen von den durch mehr oder weniger gute Isolierung bedingten Unterschieden, auch sonst ziemliche Differenzen. Im allgemeinen überschreitet der

Durchmesser der weit isolierten Kolonieen (24—48 h. 37° C) selten die Länge von 0,5 cm; doch können die Kolonieen bei längerem Wachstum bis 1 cm und mehr im Durchmesser erreichen. Auch gleichalterige Kulturen zeigen Größenunterschiede der Kolonieen, indem viscide Kolonieformen im allgemeinen größer werden als gallertige. — Wo die Kolonieen enger beisammmen stehen, erreichen sie nur eine geringe Größe (etwa 1—2 mm im Durchmesser) und haben wie auch sonst zumeist nicht die Tendenz zu konfluieren. Wenn jedoch ein Zusammenfließen erfolgt, so ist fast stets der Kontur der einzelnen Kolonieen noch deutlich erkennbar.

Lupenvergrößerung läßt die schon makroskopisch sichtbaren Unterschiede zwischen zentraler und peripherer Partie noch deutlicher hervortreten. Mikroskopisch (Zeiss, Obj. A, Okul. 3) zeigen die Kolonieen ein verschieden großes graubräunliches bis dunkelbraunes Zentrum, welches der Peripherie zu mehr oder weniger rasch in den fast farblosen Randanteil der Kolonie übergeht. Die Kolonieen sind grob granuliert, namentlich in den zentralen Anteilen; häufig sieht man eine vom Zentrum gegen die Peripherie verlaufende radiäre Strichelung angedeutet. — An den Rändern sind schon bei dieser Vergrößerung, besser noch bei stärkerer (Zeiss Obj. C, Okul. 3), die Bacillen einzeln zu sehen; sie sind immer durch einen gleichmäßig breiten hellen Zwischenraum voneinander getrennt und unregelmäßig angeordnet. Der Rand ist dabei regelmäßig und glatt.

Die Kolonieen einer Plattenkultur zeigen immer das gleiche Aussehen und die gleiche Beschaffenheit.

Auf Pfeifferschem Blutagar erfolgte kein besseres Wachstum als auf gewöhnlichem Agar; desgleichen auf Glycerinagar. Auch Serumzusatz bewirkte keine auffallenden Differenzen im Aussehen der Kolonieen gegenüber Kulturen auf entsprechend wasserreichem Agar.

In Agarstichkulturen zeigt sich Wachstum im Stichkanal und auf der Oberfläche als ziemlich flacher Rasen. Zuweilen Gasbildung.

In Zuckeragarschüttelkulturen erfolgt reichlich Gasbildung in den ersten 12—24 Stunden.

Auf schräg erstarrtem Agar zeigt sich ein bandförmiger, glänzender, erhabener Rasen, der bald fast farblos und durchsichtig, bald von grauweißlicher Farbe und durchscheinend ist. Seine Konsistenz ist eine stark viscide, zuweilen gallertige. Das Kondenswasser am Boden der Eprouvette ist von grauer bis grauweißlicher Farbe, meist außerordentlich dickflüssig und stark fadenziehend; bei Umstürzen der Eprouvette fließt es sehr langsam herab, oft aber bewegt es sich auch gar nicht. Im Agar selbst wird ab und zu Gasbildung beobachtet.

Löfflers Nährboden: Mäßig üppiges Wachstum, keine Verflüssigung.

Auf Kartoffel entwickelt sich ein mehr oder weniger üppiger, grauweißlicher, durchscheinender, fadenziehender Belag mit glänzender Oberfläche, bedeutend rascher bei Bruttemperatur, langsamer bei Zimmertemperatur. Gasbildung war nicht mit Sicherheit zu beobachten.

In Bouillon sieht man nach 24 h. bei 37° C eine mäßige diffuse Trübung, die bei längerer Beobachtung stärker wird, wobei am Boden ein nicht sehr reichlicher grauweißer Bodensatz entsteht. Zumeist zeigte sich weder Oberflächenhaut noch Ringbildung, nur in einzelnen Kulturen, die ruhig gehalten wurden, zeigte sich eine zarte Ringbildung.

Peptonwasserkultur zeigt gleichfalls diffuse Trübung, doch in

geringerem Grade als die Bouillonkultur. Indolreaktion nach 36 h. negativ, doch zeigt sich nach 24 h. Verweilen der mit Kaliumnitrit und konzentrierter Schwefelsäure versetzten Kultur bei 37° C eine schwache Rotfärbung. Das Gleiche zeigt sich bei 5 Tage alten Peptonwasserkulturen. 8 Tage alte und ältere solche Kulturen geben sogleich starke positive Indolreaktion. Ebenso verhalten sich Bouillonkulturen.

Milch zeigt schon nach 24 Stunden eine schleimige, fadenziehende Beschaffenheit, nach 4—8 Tagen tritt unter starker sauerer Reaktion Gerinnung der Milch ein, indem sich eine oberflächliche, verschieden hohe Schicht durchscheinenden Serums von dem darunter liegenden Milchkoagulum abscheidet. In den ersten 24 Stunden ist manchmal Gasbildung wahrzunehmen.

Lackmusmolke (Petruschky) wird schon innerhalb 12 Stunden rot gefärbt. Die Rotfärbung bleibt bestehen.

In anaëroben Platten (Zuckeragarstrichkulturen) in Wasserstoffatmosphäre (5 Tage 37° C) ist das Wachstum gegenüber aëroben Plattenkulturen verlangsamt, die Kolonieen zeigen jedoch alle Charaktere der aërob gewachsenen, nur erweist sich der Rand leicht unregelmäßig, wie aufgefasert, aus unregelmäßig angeordneten verschieden langen Bacillen und Fäden bestehend, die zum Teil in die Umgebung vorragen.

Mit indigoschwefelsaurem Natrium versetzter Agar (1 Promille) wird bei dem Wachstum allmählich entfärbt. Auch Neutralrotagar zeigt Entfärbung.

Bei Zimmertemperatur (18°—22° C) ist das Wachstum ein sehr langsames.

Gelatineplatten (7 Tage ca. 20° C): Die oberflächlichen Kolonieen verschieden groß, bis höchstens 2 mm, kreisrund, teils nagelkopfförmig über die Oberfläche vorragend und dann von mehr grauweißer Farbe, teils weniger erhaben bis zu nur flach erhabenen Formen, welch letztere völlig farblos und wasserhell sind. Zwischen diesen Formen alle Uebergänge. Alle Kolonieen zeigen eine glänzende Oberfläche und sind von stark viscider, fast gallertiger Konsistenz, lassen sich nur schwer von der Gelatineoberfläche abnehmen. Mikroskopisch (Zeiss Obj. A, Okul. 3) erscheinen die weniger erhabenen Kolonieen hellgelblich, grob granuliert und regelmäßig begrenzt. Die stark vorspringenden Kolonieen sind nicht mikroskopierbar.

Eine Variabilität, wie sie Wilde angibt, der namentlich aus alten Kulturen verschiedene Varietäten der Kapselbacillen aus der Kultur einer Art erhalten haben will, konnten wir niemals beobachten. Selbst bis zu 6 Monate alte Kulturen auf verschiedenen Nährsubstraten ergaben immer wieder Kolonieformen, deren Beschaffenheit nur innerhalb der beschriebenen Grenzen schwankte. Abimpfungen auf Agar von einzelnen Kolonieen der Gelatineplatten von verschiedenem Aussehen ergaben alle die gleichen Kolonieformen.

Die Gelatinestichkultur zeigte ein exquisit „nagelförmiges“ Wachstum: grauweißes, meist aus mehr oder weniger dicht aneinandergereihten Körnchen bestehendes Wachstum entlang dem Stiche und auf der Oberfläche eine kreisrunde, bald halbkugelig vorspringende, bald etwas flachere Auflagerung von grauer und grauweißlicher Farbe, dabei durchscheinender Beschaffenheit und mit glänzender Oberfläche. Häufig Gasbildung in der Gelatine, niemals Verflüssigung. Bräunung der Gelatine konnte auch an alten Kulturen nicht beobachtet werden.

In Austrocknungsversuchen bewahrten die in dünner Schicht

ausgetrockneten Bacillen durch 14 Tage ihre Lebensfähigkeit. Nach 21 Tagen ging jedoch nichts mehr an.

Außerordentlich lange lebensfähig erhielten sich die Bacillen in den Kulturen, die vor Austrocknung geschützt waren. Nach 6 Monaten zeigten sie sich in ihrer Ueberimpfbarkeit noch gar nicht geschädigt.

Was die Resistenz der Bakterien gegen Hitze betrifft, so wurde dieselbe, da es auf feinere Bestimmungen nicht ankam, derart geprüft, daß Agarröhrchen nach reichlicher Beschickung im Wasserbad verschieden lange verschieden hohen Temperaturen ausgesetzt und dann zu Platten gegossen wurden. Die Temperaturen 99° C durch 1 Minute, 70°—75° C durch 10 Minuten, 60°—65° C durch 15 Minuten, 55°—60° C durch eine halbe Stunde töteten sämtliche Bacillen ab. Nach 15 Minuten langem Verweilen bei 55°—60° C ergab die Plattenkultur ganz vereinzelte Kolonieen, nach 15 Minuten sowie nach halbstündigem Verweilen bei 50°—55° C zeigte sich im Vergleiche zur Kontrollprobe eine ziemlich beträchtliche Verminderung der Kolonieenzahl.

Pathogenität. Der gefundene Bacillus erwies sich für Mäuse und Meerschweinchen als pathogen, aber nicht für Kaninchen.

Kleinere Mengen (wie $^4/_{10}$ einer Oese bis zu drei Oesen einer 48 h. Agarkultur), weißen Mäusen subkutan injiziert, bewirkten keinerlei Erscheinungen. — Größere Dosen riefen bei subkutaner Applikation entweder bloß lokale Veränderungen hervor oder führten durch Allgemeininfektion zum Tode des Tieres. Doch bestand zwischen der Schwere der Folgen und der Menge der injizierten Bacillen kein paralleles Verhältnis. Während beispielsweise eine Maus nach subkutaner Injektion (Bauchhaut) einer halben 48 h. Agarkultur (37° C) eine ausgedehnte Infiltration der Bauchhaut bekam, welche zu Geschwürsbildung führte und dann ausheilte, bewirkte in einem anderen Versuche die subkutane Injektion von 5 Oesen einer gleichartigen Kultur durch Allgemeininfektion den Tod der Maus, allerdings erst nach 7 Tagen. Durch Tierpassage scheint die Virulenz eine Steigerung zu erfahren:

Maus No. 5 erhielt 6 Oesen einer aus einem Meerschweinchen gezüchteten Agarkultur, der Tod trat an Sepsis bereits nach 24 Stunden ein.

Doch bewirkten in einem anderen Versuche 3 Oesen einer aus dem Herzblute einer Maus gezüchteten Kultur, einer Maus subkutan injiziert, keine Erscheinungen.

Die Veränderungen, die sich an rasch nach der Injektion verendeten Mäusen vorfanden, waren die einer Sepsis mit Degeneration der parenchymatösen Organe und akutem Milztumor. Die Injektionsstelle zeigte für gewöhnlich keine auffallenden Veränderungen; aus dem Herzblute ließen sich stets die Bacillen wieder züchten. — Einen bemerkenswerten Befund bot die früher erwähnte Maus, die erst 7 Tage nach subkutaner Injektion von 5 Oesen einer Agarkultur (48 h. 37°) einging:

Im Bereiche der Injektionsstelle in etwa hellergroßer Ausdehnung eine braunrote, derbe, trockene Kruste, welche in ihrer unteren Peripherie abgehoben ist und daselbst einen von eitriger Masse bedeckten Substanzverlust erkennen läßt; in der Umgebung die Haut leicht ödematös. Im Peritonealraum etwas trübe Flüssigkeit. Leber rotbraun, morsch, von kleinsten gelbweißen Herden durchsetzt. Milz, hyperämisch, geschwollen. Nieren von gelbrötlicher Farbe, zeigen vereinzelt stehende kleine gelbweiße Herde. Die Magenwand zeigt mehrere bis etwa stecknadelkopfgroße Blutungsherde, in deren Mitte meist ein kleinster, weißlicher punktförmiger Fleck zu sehen ist. Lungen anämisch, an der Unterfläche der rechten Lunge eine pleurale Blutung. Herz kontrahiert, fast blutleer.

In der Agarplattenstrichkultur aus dem Herzblute ging der Kapselbacillus in ca. 15 Kolonieen rein auf.

Die histologische Untersuchung der Organe dieser Maus ergab folgendes:

1) Leber: Blutreich. Ziemlich zahlreich finden sich rundliche Herde, in deren Bereiche die Leberzellen kernlos und zu homogenen mit Eosin lichtrot gefärbten Balken verschmolzen sind, zwischen welchen sich jedoch gut gefärbte, meist längliche Kerne, stellenweise auch zu kleinen Gruppen angehäuft, befinden. In Schnitten, die mit Boraxmethylenblau gefärbt wurden, finden sich sowohl in den größeren Blutgefäßen als auch in den Kapillaren Bacillen, welche von verschiedener Größe, mehr oder weniger plump, meist leicht gebogen und auch in kürzern ungegliederten Fäden vorkommen; sie liegen teils einzeln zwischen den Blutkörperchen, [teils bilden sie auch kleinere Häufchen. In den erwähnten Herden finden sich keine Bacillen. In nach Gram-Weigert gefärbten Präparaten keine Bakterien.

2) Milz: Sehr blutreich. In Boraxmethylenblaupräparaten vereinzelt kürzere plumpe Bacillen nachweisbar. In Gram-Weigert-Schnitten keine Bakterien.

3) Schnitte von den Nieren zeigen namentlich in der Rindensubstanz mehrfache kleine, aus vielkernigen Leukocyten bestehende Herde, welche zumeist Glomerulis entsprechen, deren Schlingen in kürzeren oder längeren Abschnitten strotzend mit Bacillen gefüllt sind. Die Glomeruli sind dabei noch teilweise erhalten und die Leukocyten vorwiegend in ihrer Umgebung angehäuft. Bei Hämalaun-Eosinfärbung sind die Bacillen als schmutzig-rötliche, meist gekrümmte Stäbchen von verschiedener Länge und mit abgerundeten Enden zu sehen, die überall voneinander durch eine ziemlich breite Zone bläulich gefärbter, fast homogener Masse getrennt sind (Kapseln?). In Boraxmethylenblaupräparaten erscheinen die Bacillen deutlicher, blau gefärbt, in Schnitten, die nach Gram-Weigert behandelt wurden, sind die Bakterien nicht gefärbt.

4) Magen: Entsprechend den schon makroskopisch sichtbar gewesenen Blutungen sind auch in den histologischen Präparaten Blutaustritte in der Magenwand, besonders in der Schleimhaut zu finden. Das Zentrum dieser Hämorrhagieen bilden fast durchwegs Kapillaren, die mit Bacillen, häufig über lange Strecken vollgefüllt sind. Diese Bacillen gleichen in ihrem Aussehen und färberischem Verhalten vollkommen den in den Nierenschnitten beschriebenen.

5) Auch in den Schnitten der Lungen finden sich nebst kleinen Hämorrhagieen spärlich Bacillen von gleicher Form und Verhalten.

Die intraperitoneale Injektion kleinerer Dosen ($^4/_{10}$ einer Oese bis 3 Oesen) bewirkte bei weißen Mäusen keine Erscheinungen. Große Mengen, intraperitoneal appliziert, hatten den Tod zur Folge:

Maus No. 4. $^1/_2$ Agarkultur (48 h. 37°) in etwas steriler Bouillon aufgeschwemmt, intraperitoneal. Tod nach 17 Stunden.

Im Peritonealraum kein freies Exsudat, doch läßt sich vom Peritoneum in spärlicher Menge eine viscide, ausschließlich zahlreiche gramnegative Bacillen haltende Flüssigkeit abstreifen. Bis auf Degenerationen der Leber und Nieren keine Besonderheiten. Aus dem Herzblute gingen die Kapselbacillen in mäßiger Menge in Reinkultur auf.

Meerschweinchen verhielten sich bei subkutanen Injektionen selbst größeren Dosen gegenüber entweder völlig refraktär oder reagierten nur mit lokalen Veränderungen; Infiltration mit darauffolgender Geschwürsbildung.

Die intraperitoneale Injektion größerer Dosen führte dagegen durch Peritonitis zum Tode.

Meerschweinchen, 330 g. $^1/_2$ Agarkultur (48 h. 37°) in steriler Bouillon aufgeschwemmt, intraperitoneal.

Nach $8^1/_2$ Stunden das Tier schwer krank, schreit bei Berührung des Bauches. Tod innerhalb der ersten 21. Stunden. Sektionsbefund: In der Bauchhöhle reichliche Mengen einer leicht getrübten visciden Flüssigkeit. Das Peritoneum parietale und viscerale leicht gerötet, stellenweise sind den Darmschlingen fibrinöse Klümpchen aufgelagert. Die Leber bedeckt mit einer zarten grauweißlichen membranösen, dabei fadenziehenden Auflagerung, braun. Die Milz zeigt einen gleich beschaffenen zarten Ueberzug, braunrot, nicht vergrößert. Nieren bräunlich. Magen und Darm ohne Veränderungen. Lungen fleckweise hyperämisch, an den Unterlappen vereinzelte Ekchymosen der Pleura.

Deckglaspräparate vom peritonealen Exsudate: Reichlich und ausschließlich gramnegative, kurze, mittelstarke Bacillen. Reichliche polynukleäre Leukocyten.

Kulturen vom peritonealen Exsudate: Reinkultur der Kapselbacillen.
Kulturen vom Herzblute: Steril.

Tierversuche mit abgetöteten Kulturen ergaben kein positives Resultat. Mäuse vertrugen die intraperitoneale Injektion von $^3/_4$ ccm bis 1,5 ccm einer 7-tägigen Bouillonkultur, die $^1/_2$ Stunde im Wasserbade von 55°—60° C gehalten wurde, ohne irgendwelche Erscheinungen. Meerschweinchen blieben nach intraperitonealer Injektion von 1,5 ccm bis 3 ccm derselben Kultur am Leben, nur einige Stunden hindurch nach der Injektion fielen sie durch Mattigkeit und verminderte Freßlust auf.

Für Kaninchen waren subkutane und intraperitoneale Injektionen größerer Mengen lebender Kulturen ohne Folgen.

Der gefundene Bacillus stellt — um es kurz zu wiederholen — ein gramnegatives, etwas pleomorphes Stäbchen mit häufig nachweisbarer Kapsel dar, welches unbeweglich ist und keine Sporen bildet, bei Bruttemperatur besser als bei Zimmertemperatur (18—22° C) gedeiht und durch die auffallende zähschleimige bis gallertige Beschaffenheit der Kolonieen auf den festen Nährböden, namentlich auf Agar und Gelatine ausgezeichnet ist. Letztere Eigentümlichkeit ist eine konstante. In Bouillon erzeugt der Bacillus diffuse Trübung, desgleichen in Peptonwasser; Indolreaktion ist in diesen Kulturen, sofern sie 8 Tage alt und älter sind, sehr ausgeprägt positiv. Zuckeragarkulturen zeigen Gasbildung, Milch wird zur Gerinnung gebracht, flüssige Nährböden werden angesäuert. Gegen Austrocknung und Hitze ist er mäßig resistent. Seine Pathogenität ist für die gebräuchlichen Versuchstiere eine geringe. Für Mäuse und Meerschweinchen ist er pathogen, jedoch nur in größeren Dosen; erstere werden durch größere Mengen sowohl bei subkutaner als auch intraperitonealer Infektion durch Septikämie getötet, bei letzteren führt nur die intraperitoneale Injektion durch Peritonitis zum Tode. Kaninchen reagieren selbst auf größere intraperitoneal injizierte Dosen nicht.

Es steht wohl außer Zweifel, daß dieser Bacillus in jene Gruppe von Bakterien gehört, die schlechtweg als „Kapselbacillengruppe“ bezeichnet wird. Es sind das Bakterien, welche allmählich um den von Friedländer im Jahre 1883 entdeckten Bacillus pneumoniae gruppiert wurden, wobei allerdings der Umfang dieser Gruppe von Bacillen von verschiedenen Autoren verschieden weit genommen wurde. Während Wilde (1), der als erster systematisch diese Bakteriengruppe untersuchte, seine Untersuchungen bis auf Bacillen ausdehnte, die — mit dem Friedländerschen Bakterium nur entfernt verwandt — sich von dem B. coli bis auf Unbeweglichkeit gar nicht unterschieden, faßte Fricke (2) den Kreis der Gruppe des „Bacillus mucosus capsulatus“ bedeutend enger und nahm in dieselbe nur solche Bakterien auf, die dem Bacillus pneumoniae näher stehen. Fricke bezeichnet als dieser Gruppe zukommend folgende Merkmale: Unbewegliche, große, pleomorphe Bacillen ohne Sporen, die „für gewöhnlich“ nach Gram nicht färbbar sind; üppiges, schleimiges Wachstum auf festen Nährböden und „Nagelkultur“ im Gelatinestich ohne Verflüssigung derselben; pathogenes Verhalten für die Versuchstiere, namentlich Erzeugung von Septikämie bei Mäusen. Wilde vereinigt den Bacillus pneumoniae mit den verwandten Bakterien in einer Gruppe, der er den

Namen „Aërogenes-Gruppe“ gab; fast die gleichen Bacillen stellt Kruse (3) in der „Gruppe des B. aërogenes und Rhinosklerombacillen“ zusammen. Auch Clairmont (4) fast ähnlich wie Wilde in der Gruppe der „Kapselbakterien“ einerseits Bacillen zusammen, die als B. pneumoniae, andererseits solche, die als B. coli immobilis im Sinne Wildes angesprochen werden, und führt folgende Eigenschaften, als allen Bacillen der Gruppe der Kapselbakterien zugehörig, an: Kapselbildung im Tierkörper oder Menschen, Unbeweglichkeit, Nichtverflüssigung von Gelatine und Wachstum in üppigen schleimigen Auflagerungen auf Agar; das „Verhalten zur Gramschen Färbung, das Wachstum im Gelatinestich, die Indolbildung und die Tierpathogenität (namentlich Mäusen gegenüber)“ bezeichnet Clairmont als „unbestimmt“.

Wenn nun die Stellung des beschriebenen Bacillus innerhalb der Kapselbacillen besprochen werden soll, so mag vor allem darauf hingewiesen sein, daß die Eigenschaften derselben im wesentlichen mit den von Fricke angeführten Merkmalen seiner Gruppe des „Bacillus mucosus capsulatus“ übereinstimmen. Dadurch ist es ermöglicht, den Bacillus in diese engere Fassung der Kapselbacillengruppe unterzubringen und erscheint es nicht notwendig, in eine nähere Erörterung seiner Verschiedenheiten von den Bacillen, die, vom Friedländerschen Bacillus weiter entfernt, außerhalb der erwähnten Gruppe stehen, einzugehen.

Mit den Unterschieden, die unser Bacillus dem Pneumoniebacillus Friedländer gegenüber darbietet, können wir zugleich auch seine Differenzen gegenüber den Bakterien besprechen, die dem Friedländer-Bacillus sehr nahe verwandt sind, wie dem Ozaenabacillus (Abel) und Sklerombacillus (Frisch, Paltauf- v. Eiselsberg). Bieten dieselben doch eine derartige Uebereinstimmung in ihrem morphologischen und biologischen Verhalten, daß es wiederholt versucht wurde, sie miteinander zu identifizieren. Wir wollen nur die Arbeiten aus der letzten Zeit anführen: De Simoni (5) kam auf Grund von Untersuchungen, die er an Kapselbacillen aus Ozaenasekret, an Sklerombacillen und Pneumoniebacillen anstellte, zu dem Schlusse, daß alle diese nur Varietäten einer Art darstellen, deren Hauptrepräsentant der Bacillus pneumoniae (Friedländer) sei. Auch Clairmont identifiziert die Ozaenabacillen mit den Pneumoniebacillen, trennt aber die Sklerombacillen als different von beiden ab. Klemperer und Scheier (6) suchten durch Schutzimpfungsversuche und Agglutinationsversuche die Identität der Ozaena-, Sklerom- und Pneumoniebacillen zu beweisen.

Wie dem auch sei, für die Differenzierung unseres Bacillus von den genannten drei ist es belanglos, ob sie untereinander identisch sind oder nicht, denn unser Bacillus bietet — wie aus der gegebenen Beschreibung hervorgeht — so wesentliche und konstante Unterscheidungsmerkmale, daß er ohne weiteres als besondere Art von denselben abgetrennt werden kann. Ohne in eine detaillierte Besprechung dieser Unterschiede einzugehen, verweisen wir nur auf die ausführlich beschriebene Beschaffenheit der Kolonieen auf Agar und Gelatine; die Besonderheit dieser besteht namentlich in der hochgradig viskösen bis gallertigen Konsistenz, wobei die Kolonieen stark durchscheinend, ja manchmal fast völlig durchsichtig sind. Wir verweisen weiter auf das entschieden langsamere Wachstum auch bei höherer Temperatur, auf die

konstant positive Indolreaktion älterer Peptonwasser- und Bouillonkulturen. Wenn wir dazu noch die schmälere Form des Bacillus, die Säurebildung und die Gerinnung der Milch, die er verursacht, nehmen, so sind genügend Unterschiede vorhanden, die in ihrer Gesamtheit eine scharfe Trennung von den erwähnten Bacillen erlauben.

Aehnlich wie mit dem B. pneumoniae, verhält es sich mit dem B. lactis aërogenes (Escherich), der ja von den erwähnten Bakterien nicht leicht scharf abgetrennt werden kann. Von den Arbeiten über diesen Gegenstand seien nur die aus letzter Zeit stammenden Arbeiten von Grimbert und Legros (7) und von Clairmont erwähnt. Grimbert und Legros treten für die Identität des Bacillus lactis aërogenes und Pneumoniebacillus ein, Clairmont dagegen hält die Abtrennung des Bacillus aërogenes vom Friedländerschen Bacillus für berechtigt.

Clairmont erwähnt als hauptsächliche differentialdiagnostisch wichtige Merkmale das mikroskopische Bild der Kolonieen auf der Agarplatte, die Farbe des Rasens auf Schiefagar nach längerem Wachstum, Gerinnung der Milch, Säurebildung in Lackmusmolke, Intensität der Gasbildung bei Vergärung von Trauben-, Milch- und Rohrzucker.

Soweit aus der Arbeit Clairmonts ersichtlich, bildet der B. pneumoniae Kolonieen, „welche im Zentrum homogen graubraun oder dunkelbraun erscheinen, nach der Peripherie heller werden, entsprechend ihrem allmählichen Abblassen, eine immer deutlicher hervortretende Granulierung erkennen lassen, deren hellgraubrauner oder blaßbrauner Rand außerordentlich deutlich und dicht gekörnt und deren Begrenzung vollkommen scharf ist, wobei der Kontur bisweilen von einer oder zwei Reihen hintereinander gelagerter Stäbchen gebildet wird. Die Kolonieen des B. aërogenes sind „zentral dunkelbraun, trüb, wie bestäubt aussehend, gegen die Peripherie nur wenig abblassend, die äußerste Randzone nach plötzlichem Uebergang immer hell und farblos, bald deutlich, bald undeutlich granuliert, der Randkontur feinst gezähnelt.“ Die Farbe der Kolonieen des B. aërogenes auf Agar zeigt bei längerem Wachstum eine Aenderung, die Kolonieen werden opaker und mehr weiß, während bei dem B. pneumoniae dies nicht oder nur in geringem Grade vorkommt. Der B. aërogenes erzeugt in Milch prompt Gerinnung im Gegensatze zum B. Friedländer; er ist auch ein kräftiger Säurebildner in Lackmusmolke, während der B. pneumoniae nur mittlere oder geringe Säuregrade erzeugt. Auch bildet der B. aërogenes stärker Gas.

Wenn wir von der koagulierenden Wirkung auf Milch, sowie von der — wahrscheinlich starken — Säurebildung in Lackmusmolke absehen, welche unser Bacillus mit dem Bacillus aërogenes im Sinne Clairmonts gemeinsam hätte, haben doch die übrigen gegenüber dem Friedländer-, Ozaena- und Sklerombacillus angeführten Unterscheidungsmerkmale auch dem Bacillus aërogenes gegenüber Geltung.

Abgesehen von diesen Bakterien, die gewissermaßen als typische Vertreter der Kapselbacillengruppe angesehen werden können, ist in der Literatur eine ganz beträchtliche Anzahl von Bacillen beschrieben, welche wegen gewisser Abweichungen von den Pneumoniebacillen und den erwähnten anderen Bakterien als „neue Arten“ von Kapselbacillen oder als „neue Varietäten“ der bereits bekannten von den Autoren aufgefaßt wurden. Diese Bacillen werden wir nun kurz besprechen und dann auf ihre Stellung in der Kapselbacillengruppe (beziehungsweise zu derselben) und auf die Unterscheidungsmerkmale zwischen denselben und unserem Bakterium eingehen. Bei manchen derselben läßt sich die Erwähnung einiger Einzelheiten nicht umgehen, welche uns für die Auffassung des Verhältnisses dieser Bacillen zu unserem Bacillus oder zur ganzen Kapselbacillengruppe wichtig erscheinen.

Das erste hier in Betracht kommende Bakterium ist der von Passet (8) in zwei Fällen von Abscessen gefundene und im Jahre 1885 beschriebene Bacillus pseudopneumonicus. Die Eigenschaften dieses Bacillus stimmen im allgemeinen mit denjenigen der Pneumoniebacillen überein, doch nimmt er insofern eine Sonderstellung unter den bisher bekannten Kapselbacillen ein, als von Passet ein obligat aërobes Verhalten angegeben wird, während alle anderen Kapselbacillen und auch der von uns mitgeteilte fakultative Anaërobier sind. Wir kommen auf diesen Bacillus nicht mehr zurück.

Der von Alvarez (9) gefundene „Indigobacillus", welcher der Erreger der Indigogärung in den Indigopflanzen sein soll, hat dem Referate nach in morphologischer und kultureller Beziehung die größte Aehnlichkeit mit dem Rhinosklerom- und Pneumoniebacillus.

Bordoni-Uffreduzzi (10) fand in drei Fällen einer „neuen Infektionskrankheit", deren pathologisch-anatomischer Befund nach Angabe des Verf. mit dem der sogenannten Hadernkrankheit übereinstimmte, im Blute und in den Organen einen Bacillus, den er „Proteus hominis capsulatus" benannte. Derselbe wird in der Literatur vielfach zu den Kapselbacillen gerechnet, bietet aber der Beschreibung des Autors gemäß manche Eigentümlichkeiten. Der Proteus hominis capsulatus wird als ein dem Milzbrandbacillus ähnlicher, jedoch oft dickerer, zuweilen angeschwollener, unbeweglicher Bacillus beschrieben, der im Menschen durch die Gramsche Methode nicht entfärbt wird. Die Kultur auf Agar zeigte eine sich rasch ausdehnende halbdurchsichtige Schicht, im Gelatinestich ein „nagelkopf"ähnliches Wachstum ähnlich dem Friedländer-Bacillus, in Bouillon Trübung mit Oberflächenhaut und reichlichem Niederschlag. Für Mäuse erwies es sich schon in geringen Mengen pathogen, weniger für Meerschweinchen und Kaninchen; auch für Hunde ist er pathogen. In der Kultur sollen sich die Fadenformen grampositiv verhalten haben, während die kürzeren Bacillen bei der Gramschen Färbung prompt entfärbt wurden. Im Tierkörper sollen sich die Bacillen ebenfalls gramnegativ verhalten haben, wenn die Organe sofort nach dem Tode dem Tiere entnommen werden, nicht aber wenn dies erst „einige Stunden" nach dem Tode geschah. Dieses merkwürdige Verhalten zur Gramschen Färbung konnte Wilde, der einen Stamm dieses Proteus hominis capsulatus später untersuchte, nicht bestätigen, er fand denselben durchweg gramnegativ und reihte ihn auf Grund der angestellten Untersuchungen als „Bacterium coli-ähnliche Varietät des Friedländer-Typus" in seine „Aërogenes-Gruppe" ein. Kruse bezeichnet die Kultur des Proteus hom. caps. geradezu als kaum von der eines Bacterium coli unterscheidbar; zu demselben Schlusse kommt auch Clairmont.

Mit dem Proteus hom. caps. möglicherweise identisch ist nach Auffassung Bantis (11) einer der vier von diesem Autor gefundenen „neuen Proteus- oder Kapselbacillen-Arten". Die drei anderen Arten sollen dem Pneumoniebacillus nahestehen, dem Referate nach betreffen die Differenzen wesentlich das tierpathogene Verhalten.

Dem Pneumoniebacillus gleichfalls nahe verwandt dürfte der „kapseltragende Kanalbacillus" von Mori (12) sein. Mori führt als Unterscheidungsmerkmale desselben vom Friedländer-Bacillus nur an, daß die subkutane Impfung des Kanalbacillus an Mäusen „nie ohne Erfolg blieb" und daß sich die Kaninchen nicht immer bei der Infektion in die Pleurahöhle refraktär erwiesen.

Ein fast von allen Untersuchern als different vom Pneumoniebacillus anerkannter Bacillus der Kapselbacillengruppe ist der Pfeiffersche (13) Bacillus, aus dem Eiter der Bauchhöhle eines spontan eingegangenen Meerschweinchens gezüchtet. Pfeiffer beschreibt denselben als plumpen, gramnegativen, unbeweglichen und sporenlosen Bacillus, der auf Agar, Gelatine, in Bouillon und auf Kartoffel üppig gedeiht. Die Züchtung auf Agar ergibt „dicke, saftige Ueberzüge von rein weißer Farbe, die deutlich fadenziehend sind"; im Gelatinestich bildet er eine „Nagelkultur" mit glänzend weißem Kopfe ohne Verflüssigung und Verfärbung; in hoher Gelatineschicht bildet er Gas; auf Kartoffel zeigt sich ein feuchtglänzender gelblichweißer Ueberzug von zäher, fadenziehender Beschaffenheit. Er ist hochpathogen für Mäuse, erzeugt Septikämie; das Blut ist von deutlich fadenziehender Beschaffenheit. Für Meerschweinchen und Tauben ist er nur vom Peritoneum aus pathogen, Kaninchen reagierten nur auf intravenöse Injektionen größerer Mengen. — Bezüglich der Stellung dieses Bacillus in der Gruppe der Kapselbacillen kamen nicht alle Autoren, die denselben später untersuchten, zu demselben Schlusse. So meint z. B. Wilde, er gleiche am meisten seiner schleimigen Varietät des Aërogenes I; Kruse rechnet ihn zum Bacillus pneumoniae; Strong (14) teilt ihn der Aërogenes-Gruppe zu; nach Clairmont endlich bildet er den Uebergang von der Aërogenes-Gruppe, der er angehört, zur Friedländer-Gruppe.

Gessner (15) fand im Duodenum des Menschen in acht Fällen ein Bakterium, Bact. tholoeideum, welches sich vom B. lactis aërogenes durch einige geringe

kulturelle Eigentümlichkeiten und ein verschiedenes pathogenes Verhalten unterscheidet, vom Verfasser selbst aber als „vielleicht identisch" mit diesem bezeichnet wird.

Dem B. lactis aërogenes gleichfalls zugeteilt wurde von Kruse der von Frankland (16) gefundene B. candicans; aus der knappen Beschreibung desselben ist übrigens seine Zugehörigkeit zur Kapselbacillengruppe kaum zu entnehmen.

Von manchen Autoren wird auch der von Kreibohm (17) aus dem Auswurfe bei einer chronischen Bronchitis gezüchtete Bacillus sputigenus crassus zu den Kapselbacillen gerechnet. Derselbe wird — leider war uns nur das Referat zugänglich — als kurzer, plumper Bacillus geschildert, der gut auf Agar, Gelatine und Kartoffel wuchs, in Gelatinestichkultur typisches Nagelwachstum zeigt und sehr virulent war. Er soll bei Anwendung der Gramschen Methode gefärbt geblieben sein. Kruse teilt diesen Bacillus in eine besondere, der Aërogenes-Gruppe sich anschließende Gruppe des „Bacillus sputigenus tenuis" ein. Strong dagegen rechnet ihn zu der Friedländer-Gruppe.

Der von Foà und Bonome (18) in einem Falle mit milzbrandähnlichem Verlaufe und Befunde gezüchtete Bacillus ist nach Kruse dem Proteus capsulatus hominis (Bordoni-Uffreduzzi) verwandt und wird von Kruse unter dem Namen „Bacillus capsulatus septicus" mit diesem vereinigt.

Weichselbaums (19) Bacillus endocarditidis capsulatus stimmt in morphologischer Beziehung mit dem Bacillus pneumoniae (Friedländer) überein, in seinem Verhalten in den Nährsubstanzen bestehen jedoch — wie Weichselbaum hervorhebt — beträchtliche Unterschiede. So waren die oberflächlichen Kolonieen auf Agar, flach, grau, mit einem weißen zentralen Pünktchen, das Wachstum im Gelatinestich war dem des Bacillus pneumoniae nicht ähnlich, die Kulturen auf schiefem Agar hatten keine viscide Beschaffenheit.

Kaum vom Friedländerschen Bakterium abzutrennen ist die von Mandry (20) beschriebene „Abart des Friedländerschen Bacillus"; Mandry selbst hält es nicht für ausgeschlossen, daß sie nur „eine virulentere Varietät" desselben darstelle.

Müller führt in seiner Zusammenstellung der Kapselbacillen auch einen Bacillus an, der von Pansini (21) 2mal bei Kavernen und 1mal bei katarrhalischer Pneumonie im Auswurfe gefunden wurde. Dieser „Bacillus tenuis sputigenus" wird von Pansini als feiner, unbeweglicher, grampositiver Bacillus beschrieben, der Gelatine nicht verflüssigt, Milch ansäuert und koaguliert und dessen Kulturen in Gelatine runde gelbliche Kolonieen ohne wahre „Nagelkopf"form darstellen, auf Agar sehr helle, kaum über die Oberfläche erhabene Kolonieen, auf Kartoffel einen gelblichen, feuchten Ueberzug und in Bouillon Trübung ohne Membranbildung an der Oberfläche zeigen. Er war für Kaninchen und weiße Ratten pathogen, nicht aber für Meerschweinchen und auch nicht — in kleinen Mengen — für weiße Mäuse. Kruse stellte diesen Bacillus in eine besondere Gruppe, in dieselbe, welcher er auch den Kreibohmschen Bacillus sputigenus crassus zuteilt.

Loeb (22) fand in einem Falle von beginnender Keratomalacie in der aus dem erweichten Hornhautinfiltrate angelegten Kultur einen Kapselbacillus, den er nach vergleichender Untersuchung mit dem Pfeifferschen Bacillus mit diesem zwar nicht identifizierte, aber für nahe verwandt erklärte.

In einem interessanten Falle von Vereiterung von Gallengangcysten und davon ausgegangener Allgemeininfektion mit eiteriger Meningitis kultivierte Kockel (23) einen Kapselbacillus in Reinkultur, den er als dem Friedländerschen Bacillus überaus ähnlich bezeichnet. Den hauptsächlichen Unterschied sah der Autor in der Pathogenität des Bacillus für Kaninchen (bei intravenöser und intraperitonealer Injektion), einem Merkmale, auf dessen geringe differentialdiagnostische Bedeutung wir noch später zurückkommen wollen.

Der von Fasching (24) in drei Fällen aus Borken des Cavum nasopharyngeale und einmal aus dem Sputum eines Phthisikers gezüchtete Bacillus capsulatus mucosus wird vom Autor als gramnegativer, unbeweglicher, kapseltragender Bacillus beschrieben, der folgende kulturelle und pathogene Eigentümlichkeiten darbietet: Der Bacillus bildet in Gelatine milchig durchscheinende, kuppenartig über die Oberfläche emporragende, kreisrunde Kolonieen, ähnlich Schleimtröpfchen, im Zuckergelatinestich typische Nagelkultur, häufig mit lebhafter Gasbildung, im Gelatinestich einen massigen schleimigen, rahmähnlichen Ueberzug ohne Verfärbung der Gelatine; die Züchtung auf Agar und Rinderserum ergibt dicke, rahmähnliche, feuchte Auflagerungen, auf Kartoffel feuchtschleimige, weißliche, saftige Ueberzüge ohne Gasbildung; die Bouillonkultur zeigt gleichmäßige Trübung mit nachfolgender Bildung eines schleimigen Bodensatzes, in neutraler Lakmusmolke (Petruschky) tritt nach 24 Stunden Rotfärbung ein, welche jedoch nach 72 Stunden bis 4 Tagen in eine entschiedene Bläuung umschlägt. Kleinste Mengen, subkutan injiziert, töten Mäuse unter Septikämie; Tauben und Kaninchen sind

refraktär. Nach Wilde entspricht der Faschingsche Bacillus seinem Rhinitisbacillus II; diesen wieder stellt er als Uebergangsform zwischen den Sklerombacillus und den Bacillus pneumoniae. Kruse handelt den Bacillus capsulatus mucosus zugleich mit dem Ozaenabacillus ab, Strong stellt ihn in die Friedländer-Gruppe, Clairmont endlich kam auf Grund seiner Untersuchungen, bei welchen ihm — wie nebenbei bemerkt sei — eine besonders zähe Beschaffenheit der Kulturen des Faschingschen Bacillus auffiel, zu der gleichen Ansicht wie Wilde und reihte denselben als Species 2 zwischen den Friedländerschen und den Sklerombacillus in seinen Typus I der Kapselbakterien ein.

Lafar (25) gibt von seinem in der Butter aufgefundenen Bacterium butyri colloideum eine kurze, nicht vollständige Beschreibung. Derselben entnehmen wir, daß es sich um ein gut färbbares, häufig Mikrococcus-ähnliches und in Ketten vorkommendes, fakultativ anaërobes Kurzstäbchen handelt, dessen Gelatinestichkultur nur gering sich verbreiterndes Wachstum auf der Oberfläche ohne Verflüssigung zeigt, deren Kolonieen in Plattenkulturen Knöpfchen-ähnlich, von der Größe eines Stecknadelkopfes, glasig durchscheinend und von zäher schleimartiger Konsistenz sind, und deren Kartoffelkultur einen feinen feuchten, glänzenden Belag zeigt.

Unter den Bakterien, die sich nur „durch ganz unwesentliche Merkmale“ vom Bacillus pneumoniae unterscheiden, zählt Kruse auch den Bacillus pyogenes crassus von Lucet (26) auf. Dieser Bacillus wird von Lucet als bewegliches, sich bei Gram entfärbendes Bakterium beschrieben; seine Kulturen bilden auf Gelatine einen üppigen, weißen, metallisch glänzenden Rasen ohne Verflüssigung[1]), auf Kartoffel einen weichen, dicken, schleimigen Ueberzug, in Bouillon dauernde Trübung, wobei die Flüssigkeit fadenziehend wird; für das Kaninchen zeigte er sich nicht pathogen, dagegen führte die intraperitoneale Injektion beim Meerschweinchen durch Peritonitis zum Tode.

Der von Paulsen (27) in 51 Fällen von atrophierender Rhinitis gefundene Kapselbacillus soll den Referaten zufolge vom Friedländerschen Bakterium kaum zu unterscheiden sein.

Ebenso läßt sich der bei einem Falle von hämorrhagischer Nabelsepsis eines Neugeborenen von v. Dungern (28) aus einem Bakteriengemenge isolierte Kapselbacillus (den der Autor als Erreger der Infektion ansehen will) durch morphologische und kulturelle Eigenschaften — wie der Verfasser selbst angibt — von dem Pneumoniebacillus (Friedländer), und auch von dem Pfeifferschen Bacillus und dem Bacillus canalis capsulatus (Mori) nicht abtrennen. Er unterscheidet sich von diesen nur durch stärkere Virulenz, besonders für Kaninchen, und durch die Eigenschaft, sehr häufig Hämorrhagieen zu veranlassen.

Eine eigentümliche „Umwandlung“ aus einem beweglichen in einen unbeweglichen Bacillus hat der von Stern (29) aus einem Falle von Allgemeininfektion mit eitriger Meningitis gezüchtete und später von Wilde untersuchte Bacillus durchgemacht. Stern reihte diesen, als beweglich erkannten Bacillus in die Gruppe des Colonbacillus ein, bei der Nachuntersuchung Wildes fand sich der untersuchte, von Stern mittelbar herrührende Stamm unbeweglich und wurde nun von Wilde in die Aërogenes-Gruppe eingereiht.

Marchand (30) fand bei einer lobären Pneumonie einen „noch nicht näher bekannten“ Kapselbacillus, den er zur selben Gruppe wie den Friedländerschen Bacillus, die Bacillen von Bordoni-Uffreduzzi, Paulsen und Fasching zählt; mit dem Faschingschen soll er die meiste Aehnlichkeit haben. — Die in Aussicht gestellte Mitteilung über diesen Bacillus ist unseres Wissens nicht erschienen.

Einen neuen pathogenen Kapselbacillus züchtete Nicolaier (31) aus einer eiterigen Nephritis. Derselbe glich seinen morphologischen und kulturellen Eigenschaften nach dem Bacillus mucosus capsulatus Fasching sowie dem Abelschen Ozaenabacillus, doch meinte Nicolaier seinen Bacillus schon dadurch von allen bekannten Kapselbacillen trennen zu können, daß derselbe bei Versuchen an Mäusen neben Septikämie meist auch metastatische Abscesse in den Nieren erzeugte. — Nach Kruse gehört Nicolaiers Bacillus wahrscheinlich zum B. aërogenes.

Einen neuen Kapselbacillus fand auch Herla (32) gelegentlich von Untersuchungen pneumonischer Sputa und benannte ihn Bacillus aërogenes sputigenus capsulatus. Dieser Bacillus soll vom Friedländerschen durch einige kulturelle Verschiedenheiten abweichen: So werden die Oberflächenkolonieen auf Gelatine als grauweißlich, von schleimigem Aussehen beschrieben, während der Friedländer-Bacillus opake, weiße porzellanartige Kolonieen geben soll; auf Kartoffel zeigt der Bacillus von Herla ein zartes transparentes Wachstum im Gegensatz zum üppigen Wachstum mit

1) In Baumgartens Jahresberichte, 1893, p. 335, ist im Referate der Lucetschen Arbeit irrtümlich angegeben, daß der B. pyogenes crassus Gelatine verflüssige.

Gasbildung des Friedländerschen Bacillus; endlich unterscheide er sich durch die starke Virulenz von dem Friedländer-Bacillus.

Chiari (33) teilte einen genau untersuchten Fall von Allgemeininfektion mit, welche von einer Pyelonephritis ausgegangen war, als deren Erreger er einen Kapselbacillus fand, den er mit keinem der beschriebenen Kapselbacillen identifiziert. An anderer Stelle haben wir (34) auf die Geringfügigkeit der von Chiari angegebenen Differenzen dieses Bacillus vom Pneumoniebacillus Friedländers hingewiesen.

Wright und Mallory (35) fanden in einem Falle von Bronchopneumonieen einen Kapselbacillus, der von dem Friedländerschen nach Angabe der Verfasser dadurch abwich, daß er keine „Nagelkulturen" im Gelatinestich bildete, daß er in den Kulturen Kapseln hatte und endlich dadurch, daß er sich in höherem Grade für Mäuse und Meerschweinchen, aber auch für Kaninchen virulent erwies. Wright und Mallory halten diesen Bacillus für aller Wahrscheinlichkeit nach identisch mit den von Pfeiffer und Fasching beschriebenen Kapselbacillen.

Aus dem durch Milzpunktion gewonnenen Blute eines Mannes, der an „infektiöser Gelbsucht" erkrankt war, kultivierte Banti (36) einen in die Gruppe der Kapselbacillen gehörenden Mikroorganismus, der nach Ansicht des Autors am meisten dem Rhinosklerombacillus und dem Proteus hominis capsulatus (Bordoni-Uffreduzzi) sowie dem Proteus capsulatus septicus (Banti) ähnelt. Dieser Bacillus icterogenes capsulatus soll aber genügende Unterscheidungsmerkmale darbieten, um ihn als neue Art aufstellen zu können. Bezüglich der genaueren Auseinandersetzung seiner Eigentümlichkeiten wird auf eine später zu erfolgende Mitteilung verwiesen.

Wicklein (37) wies in einem Falle von chronischen Leberabscessen, in dem es zur Perforation des Zwerchfells und Einbruch in die Lunge gekommen war und die chronisch entzündete Gallenblase in die Peritonealhöhle durchgebrochen war, einen Kapselbacillus nach, der sich in seinem ganzen Verhalten dem Pfeifferschen Bacillus so ähnlich zeigte, daß Wicklein beide für identisch erklärte. Kruse rechnet ihn zum Bacillus aërogenes.

Der von Herzfeld und Herrmann (38) beschriebene „neue Kapselbacillus" stellt ein Bakterium mit lebhafter Eigenbewegung dar. Von seinem sonstigen Verhalten sei erwähnt, daß er Gelatine verflüssigt und bei höherer Temperatur als 31° nicht zu gedeihen vermag.

Unter einer Reihe von Fällen, die Infektionen mit Bacillen aus der Gruppe des B. mucosus capsulatus (Fricke) betreffen, teilt Howard (39) auch einen Fall von Allgemeininfektion mit einem ebenfalls in diese Gruppe gerechneten Bacillus mit, von dem er nur angibt, daß er pleomorph sei, sehr üppig wachse, eine starke Gasbildung in Traubenzuckeragar, auf Kartoffel und gelber Rübe, verursachte, sich bei Gramscher Färbung nicht entfärbe und für Kaninchen und Meerschweinchen pathogen sei.

Aus flüssiger chinesischer Tusche züchtete Hamilton (40) eine „neue Art" von Kapselbacillen. Von den angegebenen Merkmalen dieses Bacillus sei erwähnt, daß die Kolonieen desselben auf Agar große schleimige Tropfen bilden mit wochenlang anhaltendem Porzellanglanze, daß im Gelatinestich typische Nagelkultur in Bouillon Trübung mit Oberflächenhaut, auf Kartoffel eine dicke rahmartige Haut entstehe; Milch bringt der Bacillus langsam zur Gerinnung; in Agar bei anaërober Züchtung sowie auf Kartoffel bei 37° zeigen die Kulturen Gasbildung; auf sauren Nährböden kein Wachstum. Er ist pathogen für Mäuse (Septikämie) und für Meerschweinchen bei intraperitonealer Infektion (Peritonitis). Morphologisch zeigte dieser Bacillus capsulatus chinensis keine Besonderheiten. Auf das Vorhandensein von Kapseln auch in den Kulturen legt Hamilton großen Wert und hält es für genügend, um diesen Bacillus von dem B. pneumoniae (Friedländer) als besondere Art zu unterscheiden.

Müller (41) berichtete in einer Arbeit, der er auch eine Tabelle der vom Friedländerschen Bakterium abweichenden Kapselbacillen zugab, über einen Kapselbacillus, gezüchtet aus Sputum, welchen er als Varietät des Friedländerschen Bacillus auffaßte. Der Unterschied bestünde darin, daß diese Varietät auf künstlichen Nährböden Kapseln bilde, daß Milch unter Säurebildung zur Koagulation gebracht würde und endlich darin, daß die Kolonieen ein besonderes mikroskopisches Aussehen darböten. Längeres Weiterzüchten solle diese Unterschiede verwischen.

Eine „Varietät des B. mucosus (Löwenberg-Abel)" züchtete de Simoni (42) in 11 Fällen von Ozaena. Diese Varietät, Bacillus mucosus tenax benannt, zeigte morphologisch keine Unterschiede von dem Friedländer-Bacillus und dem Bacillus mucosus; dagegen zeigten sich in kultureller Beziehung Differenzen. Einer zweiten Arbeit de Simonis (43), in welcher die Mucosusbacillen der Ozaena in drei Gruppen eingeteilt werden und die dritte Gruppe eben durch den B. mucosus tenax repräsentiert wird, entnehmen wir über das kulturelle Verhalten desselben folgendes: Die Oberflächenkolonieen auf Agar sind kreisförmig, erhaben, schmutzigweiß oder grau,

werden nach 48 Stunden größer, bleiben ohne Neigung zusammenzufließen. Die Kulturen in Gelatineplatten sind charakteristisch, sie zeigen (3—4 Tage, 12°—15°) an der Oberfläche kleine, scheibenförmige, leicht erhabene Kolonieen mit homogenem, hellem oder strohfarbigem Inhalte. Nach 6—8 Tagen werden sie ca. linsengroß, ihr Inhalt wird trocken, strohgelb oder schmutziggelb, der peripherische Hof dichter und intensiver gefärbt. Besonders charakteristisch ist der scheckige und in Falten gelegte Rand. Die anfänglich erhabene Kolonie senkt sich allmählich in den Nährboden ein, jedoch ohne ihn zu verflüssigen und „wird so zähe, daß bei den Versuchen, Kolonieen mit der Platinöse zu isolieren, diese sich in ihrer Gesamtheit ablösen". Auch an den älteren Kulturen auf Schiefagar ist der resistente, festhaftende Belag charakteristisch. Im Gelatinestich entsteht eine Nagelkultur mit opakweißem oder strohfarbigem Kopfe, der später ohne Verflüssigung einsinkt; längs des Einstiches zeigt sich Gasbildung. Bouillonkultur zeigt diffuse Trübung mit Niederschlag und zähem Oberflächenhäutchen. In Milch tritt keine Gerinnung ein, doch wird sie dick und schleimig. Auf Kartoffel entsteht ein anfangs feuchter Beleg, der später trocken wird und zu einem festhaftendem, zähen, fein gekräuselten Häutchen von opaker, schmutzigweißer Farbe wird. Die Bacillen sind für Meerschweinchen und Kaninchen nicht pathogen. Die Frage, ob die Bacillen seiner 3 Gruppen, sowie auch der B. mucosus tenax, als voneinander verschiedene Arten oder als Varietäten, einer Art anzusprechen seien, beantwortet de Simoni dahin, daß alle drei Typen nur Umwandlungen einer Art sind; als Hauptstamm derselben sei der Bacillus Friedländer anzusehen. Zu dieser Ansicht kam de Simoni auf Grund von Versuchen, in welchen er alle drei Varietäten ineinander überführen und ihre Charaktere in die typischen Charaktere des Friedländer-Bacillus umwandeln konnte.

In einem Falle von hämorrhagischer Infektion bei einem 20-jähr. Manne, die bereits nach 36 Stunden unter Erbrechen und Diarrhöen zum Tode geführt hatte, fanden Blumer und Laird (43) bei der bakteriologischen Untersuchung einen Mikroorganismus, den sie als Erreger der Erkrankung auffassen und in die Gruppe des Bacillus mucosus capsulatus stellen. Es handelt sich um einen gramnegativen Bacillus, der in Präparaten aus tierischen Geweben und gelegentlich aus Blutserumkulturen durch die Welchsche Methode Kapseln darstellen ließ. Was sein kulturelles Verhalten betrifft, so wird das Wachstum auf Schiefagar ausdrücklich als nicht viscid angegeben; im Gelatinestich zeigte sich ein zartes Wachstum entlang dem Impfstiche und ein geringes rundliches, nicht erhabenes Wachstum auf der Oberfläche; in Dextrose-freier Bouillon bildet der Bacillus nach 4 Tagen (37°) Indol. Er erwies sich pathogen für Meerschweinchen (subkutan und peritoneal) und für Kaninchen (intravenös). Durch sein Unvermögen, in Zuckerbouillon Gas zu produzieren unterscheiden Blumer und Laird ihren Bacillus von allen bisher beschriebenen aus dieser Gruppe.

Zwei Umstände sind es, die bei dem Studium der im vorhergehenden angeführten Literatur auffallen und die wohl zum Teil die große Zahl der „neuen Kapselbacillen" bedingt haben mögen: 1) die Neigung einer Reihe von Autoren, auf Grund geringer morphologischer, kultureller oder pathogener Verschiedenheiten ihre Bacillen als besondere Arten von den bekannten Bakterien der Kapselbacillengruppe abzutrennen und demgegenüber 2) die Neigung anderer Autoren, auf Grund der Uebereinstimmung in einigen unwesentlichen Punkten Bacillen der Gruppe zuzuteilen, die in ihrem sonstigen Verhalten wesentliche Differenzen von dieser Gruppe aufweisen.

Was zunächst das zweite Moment betrifft, so scheint insbesondere die Kapselbildung manchen Autoren den Anlaß gegeben zu haben, solche Bakterien in die Kapselbacillengruppe zu stellen. Es hat bereits Wilde auf die geringe Bedeutung der Kapselbildung als Gruppenmerkmal hingewiesen und es wurden von verschiedenen Seiten andere Namen für die Gruppe der „Kapselbacillen" vorgeschlagen; da jedoch diese Bezeichnung trotzdem eine allgemeine geworden ist, scheint es am richtigsten unter Belassung dieses Gruppennamens kapseltragende Mikroorganismen, die der Gruppe nicht angehören, mit anderen Namen und nicht einfach als „Kapselbacillen" zu bezeichnen.

Zu den Bakterien, die aus diesem oder einem anderen Grunde zu den Kapselbacillen gerechnet wurden und zweifellos dieser Gruppe nicht

angehören, gehören vor allem die beweglichen Bakterien von Lucet (Kruse), Herzfeld und Herrmann und — wenn wir uns an die Angaben des Autors halten — der Bacillus von Stern[1]). Die Bakterien können — auch ohne Rücksicht auf ihr sonstiges differentes Verhalten — ohne weiteres aus der Kapselbacillengruppe, welcher die Unbeweglichkeit als konstantes Merkmal zukommt, ausgeschaltet werden.

Aehnlich wie mit den beweglichen Bakterien, verhält es sich unserer Meinung nach mit jenen als Kapselbacillen bezeichneten Bakterien, für die ein positives Verhalten bei Anwendung der Gramschen Färbungsmethode angegeben wird.

Es sind in der Literatur einige Angaben vorhanden, laut welchen sich Friedländer-Bacillen oder verwandte Bakterien teils in Ausstrichpräparaten aus Geweben, teils in Schnitten nach Gram nicht entfärbt hätten, während sich sonst dieselben Bakterien im allgemeinen, insbesondere in den Kulturen gramnegativ verhielten (Mills [45], Wilde, Clairmont [46]). Andere Autoren wieder berichten über Bakterien, die sie selbst oder andere in die Kapselbacillengruppe einreihen, welche teils überhaupt grampositiv waren (Kreibohm, Pansini, Howard), teils sich nur in einzelnen ihrer Formen so verhielten (Bordoni-Uffreduzzi). — Namentlich über das Verhalten der Rhinosklerombacillen zur Gramschen Färbung finden sich in der Literatur Widersprüche (Dittrich [47], Zagari [48], Paltauf [49]), doch scheinen jetzt die meisten Autoren das gramnegative Verhalten dieser Bacillen anzuerkennen (Wilde, Kruse u. a.).

Ohne in eine nähere Erörterung aller dieser Angaben einzugehen, möchten wir nur hervorheben, daß in Uebereinstimmung mit den Befunden der überwiegenden Mehrzahl der Autoren auch im Wiener pathologisch-anatomischen Institute bei Bacillen, welche die sonstigen Merkmale der in Rede stehenden Gruppe zeigten, immer und ausnahmslos ein gramnegatives Verhalten konstatiert wurde, und zwar in Ausstrichpräparaten wie auch in Kulturen. Daß auch in Schnitten in dieser Hinsicht keine Ausnahmen bestehen, haben wir für die Friedländerschen Bacillen, welche ja die Hauptvertreter der Kapselbacillengruppe sind, in einer Untersuchungsreihe gezeigt, über die wir anderenorts berichtet haben.

Es genügen unserer Meinung nach die erwähnten vereinzelten Literaturangaben nicht, um solche Ausnahmen zu beweisen und wir können uns daher der Ansicht Clairmonts, der das Verhalten der Kapselbacillen der Gramschen Färbung gegenüber — offenbar auf Grund dieser Angaben, da er über eigene diesbezügliche Untersuchungen an den von ihm studierten Kapselbakterien nichts erwähnt — als „unbestimmt" bezeichnet, nicht anschließen. — Bei der Wichtigkeit der Gramschen Färbungsmethode in differentialdiagnostischer Beziehung glauben wir vielmehr, daß die Identifizierung von etwaigen grampositiven in Ausstrichpräparaten aus Organen (oder in den entsprechenden Schnitten) vorhandenen Bacillen mit in der Kultur angegangenen gramnegativen mit der größten Vorsicht vorzunehmen sei.

Daß diese Vorsicht hier wirklich am Platze sei, beweist folgender Fall, den wir nebenbei erwähnen wollen. In dem Eiter cholangitischer Leberabscesse fanden wir im

---

1) Der Bacillus Stern wurde allerdings erst von den späteren Untersuchern (Wilde, Kruse), die ihn unbeweglich fanden, in die Kapselbacillengruppe eingereiht.

Ausstrichpräparate zahlreiche grampositive Bacillen neben gramnegativen von gleicher und ähnlicher Form; die Agarplattenstrichkultur ergab reichlich Kolonieen eines gramnegativen Bacillus der Kapselbacillengruppe neben solchen von Bacillen der Coli-Gruppe; die anaërobe Kultur wies aber neben diesen einen obligat anaëroben grampositiven Bacillus nach. Mit diesem Beispiele möchten wir nur auf die Möglichkeit einer solchen Fehlerquelle aufmerksam machen.

Solange keine sicheren Beweise für die Behauptung erbracht werden, daß Angehörige der Kapselbacillengruppe unter Umständen grampositiv erscheinen können, halten wir es für geboten, an dem negativen Verhalten zu Gram, als einem wichtigen Kennzeichen dieser Bacillengruppe festzuhalten.

Von diesem Standpunkte aus möchten wir die grampositiven unter den angeführten „besonderen Kapselbacillen“, gleich den beweglichen, aus der Kapselbacillengruppe ausschließen: es ist das der B. sputigenus crassus Kreibohm, der B. sputigenus tenuis Pansini und der Bacillus von Howard. — Für den Bacillus von Pansini geht das um so leichter, als derselbe auch in seinen sonstigen Eigenschaften fast keine Aehnlichkeit mit den Kapselbacillen darbietet, während der Kreibohmsche wenigstens in seiner plumpen Form, dem üppigen Wachstum und der Nagelkultur in Gelatine mit denselben übereinstimmt. Inwieweit der von Howard beschriebene grampositive Bacillus auch in sonstigem Verhalten von den Kapselbacillen abweicht, ist aus der unvollständigen Beschreibung (s. oben) nicht zu ersehen.

Auf die Unterschiede unseres Bacillus von diesen beweglichen und grampositiven, nicht zu der Kapselbacillengruppe gehörenden Bakterien brauchen wir nicht einzugehen. — Ein auffallendes, wechselndes Verhalten bei der Gramschen Färbung wird von Bordoni-Uffreduzzi für seinen Proteus hominis capsulatus angegeben, von Wilde jedoch nicht bestätigt. Wenn wir davon auch absehen, so bietet dieser Bacillus schon durch sein flaches, blaßgraues Wachstum auf Agar (Clairmont) ein Unterscheidungsmerkmal von unserem Bacillus, welches eine Auseinandersetzung der sonstigen Unterschiede unnötig macht. — Die eine Bacillenart von Banti, die Banti für möglicherweise identisch mit dem Proteus capsulatus hominis hält, sowie der Bacillus von Foà und Bonome, der nach Kruse demselben ebenfalls nahe verwandt sein soll, erheischen wohl ebenfalls keine besondere Besprechung, um sie von unserem Bacillus zu differenzieren.

Für viele der anderen „neuen Kapselbacillen“ trifft der früher hervorgehobene Umstand zu, daß nämlich ihre Abgrenzung von den anderen, bereits bekannten Kapselbacillen auf Grund geringer oder nicht mehr geltender Differenzen vorgenommen wurde. Als solche Verschiedenheiten, welchen unseres Erachtens kein großer Wert beigemessen werden kann, betrachten wir beispielsweise das Vorhandensein oder Fehlen von Kapseln in Präparaten aus den Kulturen, das Bestehen einer stärkeren oder schwächeren Virulenz, auch haben wir bereits anderenorts darauf hingewiesen, daß nach den heutigen Kenntnissen die Pathogenität für Kaninchen kein Unterscheidungsmerkmal gegenüber dem Friedländer-Bacillus sein kann.

Es ist nicht möglich, aus den Beschreibungen der von verschiedenen Autoren gewonnenen Untersuchungsresultate die Verschiedenheit oder die Zusammengehörigkeit der einzelnen „neuen Kapselbacillen“ mit Sicher-

heit zu bestimmen. Vielfach wurde auch die bakteriologische Untersuchung nur unvollständig vorgenommen. Zum Teil waren uns die Originalarbeiten nicht zugänglich. Immerhin können wir, da es uns nur um die Abgrenzung unseres Bacillus von diesen Kapselbacillen zu tun ist, einige derselben, welche voneinander oder von einem dritten Kapselbacillus nur durch die angedeuteten kleinen, kaum verwertbaren Verschiedenheiten abweichen, zusammenfassend unserem Bacillus gegenüberstellen. So werden für die Bacillen von Alvarez, Banti (3 Stämme), Mori, Mandry, Kockel, Paulsen, v. Dungern, Chiari, Hamilton, Müller[1]) von den Autoren (bezw. den Referenten) teils die große Aehnlichkeit mit dem Friedländerschen Bacillus hervorgehoben, teils nur Unterschiede oben erwähnter Natur angeführt. Für alle diese Bacillen haben sonach die gleichen Unterscheidungsmerkmale gegenüber unserem Bacillus Geltung, welche wir beim Friedländer-Bacillus namhaft gemacht haben. — Das Gleiche gilt mutatis mutandis für das Gessnersche Bacterium tholoeideum und den Bacillus lactis aërogenes.

Ebenso können wir die Bacillen von Loeb und Wicklein gemeinsam mit dem Pfeifferschen Bacillus besprechen, da sie von den Autoren mit demselben für nahe verwandt, bezw. identisch erklärt werden. Die rein weiße Farbe und saftige, fadenziehende Beschaffenheit der Agarkulturen des Pfeifferschen Bacillus stehen mit dem eingangs für unseren Bacillus beschriebenen Aussehen der Agarkolonieen in einem solchen Gegensatze, daß wir die sonstigen in Betracht kommenden Verschiedenheiten (soweit sie aus der nicht vollständigen Beschreibung zu ersehen sind) wohl nicht in Erwägung zu ziehen brauchen.

Was den von Fasching beschriebenen Bacillus capsulatus mucosus anbelangt, so geht aus den früher erwähnten Merkmalen desselben seine Verschiedenheit von unserem Bacillus hervor. Die charakteristische Beschaffenheit der Agarkultur unseres Bacillus, das Aussehen der Gelatinekolonieen und Gelatinestichkulturen, die Produktion von Säure in Petruschkyscher Lackmusmolke ohne nachfolgende Alkalibildung u. s. w. im Vergleiche zu den entsprechenden Merkmalen des Faschingschen Bacillus, lassen ihre Artverschiedenheit zweifellos erscheinen. Es kommen noch als weitere Unterschiede hinzu, daß Clairmont für den Faschingschen Bacillus mangelnde Indolreaktion und Milchkoagulation nachgewiesen hat. Es kann an dieser Verschiedenheit auch der Umstand nichts ändern, daß von Clairmont eine derart zähe, fadenziehende Beschaffenheit der Agarkultur des Faschingschen Bacillus gefunden wurde, „daß es nur schwer gelang, den an der Agaroberfläche festhaftenden Belag mit der Oese abzustreifen“, ein Verhalten, welches dem bei unserem Bacillus gefundenen ähnlich ist.

Der Bacillus von Nicolaier kann von unserem schon dadurch auseinandergehalten werden, daß derselbe dem Ozaenabacillus und dem Faschingschen Bacillus in morphologischer und kultureller Beziehung glich. Allerdings erzeugte auch unser Bacillus metastatische Abscesse in den Nieren einer Maus, was Nicolaier als charakteristisch

1) Hierher gehört wahrscheinlich auch der von Kruse erwähnte B. oxytocus perniciosus Flügge (von uns im Texte nicht angeführt).

für seinen Bacillus hält, doch können wir dies nicht als Merkmal ansehen, welches eine Art kennzeichnen könnte; haben wir doch in einem Falle metastatische Nierenabscesse beim Menschen durch einen typischen Friedländer-Bacillus verursacht gesehen.

Bezüglich der Differentialdiagnose des von Wright und Mallory beschriebenen Bacillus verweisen wir, da derselbe aller Wahrscheinlichkeit nach mit den von Pfeiffer oder Fasching beschriebenen identisch sein soll, auf das bei diesen Gesagten.

Von dem Bacillus von Herla, welcher sich durch einige kulturelle Eigentümlichkeiten vom Friedländer-Bacillus unterscheiden soll, ist unser Bacillus durch die gleichen Merkmale wie von letzterem unterschieden. Es decken sich nämlich die Verschiedenheiten des Bacillus von Herla und unseres Bacillus von dem Friedländer-Bacillus nicht.

Auch auf die Unterschiede, die der Bacillus mucosus tenax de Simoni von unserem Bacillus darbietet, erachten wir nicht für nötig einzugehen, da das anscheinend gemeinsame Merkmal, die hochgradige Zähigkeit, die es bewirkt, daß man Kolonieen nur als Ganze von dem Nährboden abheben kann, bei Vergleichung der Beschreibungen sich als verschieden herausstellt. Außerdem ist das sonstige Verhalten dieses Bacillus, z. B. im Gelatinestich, in Milch, Kartoffel, von demjenigen unseres Bacillus leicht als verschieden zu erkennen. De Simoni konnte seinen Bacillus auch in den Haupttypus der Kapselbacillen, als welchen de Simoni den Friedländer-Bacillus betrachtet, überführen, was uns trotz darauf gerichtetem Augenmerke bei unserem Bacillus niemals gelang. Abgesehen von den angegebenen Variationen in seinem kulturellen Verhalten, zeigte unser Bacillus im Laufe der länger als 1 Jahr währenden Untersuchungen niemals Abweichungen anderer Art.

Auf die großen Unterschiede, die der Bacillus endocarditidis capsulatus Weichselbaum in kultureller Beziehung von dem Friedländerschen Bacillus darbietet, macht der Autor selbst aufmerksam. Dieselben lassen es sogar zweifelhaft erscheinen, ob dieses Bakterium der Kapselbacillengruppe zugeteilt werden kann.

Was schließlich die Bacillen von Frankland, Lafar, Marchand, Banti und Blumer und Laird betrifft, so sind die Mitteilungen über dieselben teils so knapp gehalten, daß ihre Zugehörigkeit zur Gruppe der Kapselbacillen kaum ersichtlich ist, teils ist ihre Verschiedenheit von unserem Bacillus ohne weiteres zu erkennen.

Da wir nun gezeigt haben, daß der gefundene Kapselbacillus eine besondere Art darstellt und mit keiner der bislang beschriebenen Kapselbacillenart identifiziert werden kann, so wird es nicht ohne Interesse sein, zu untersuchen, ob sich derselbe in eine der bisher getroffenen Einteilungen dieser Gruppe einreihen lasse. — Solche Einteilungen wurden hauptsächlich von Wilde, dann von Strong und zuletzt von Clairmont versucht.

Wilde stellte auf Grund von eingehenden Untersuchungen, die er an 25 verschiedenen Stämmen vornahm, 5 Typen der Kapselbacillen auf, ohne übrigens der Frage der ihm nicht unwahrscheinlich scheinenden Identität aller dieser Bacillen vorgreifen zu wollen. In der folgen-

den Tabelle haben wir in übersichtlicher Weise die Einteilung Wildes dargestellt.

| | I. Typus B. lactis innocuus | II. Typus Sklerombacillus | III. Typus B. pneumon. Friedländer | IV. Typus B. aërogenes | V. Typus B. coli immobilis |
|---|---|---|---|---|---|
| Kolonieen auf Gelatineplatten | kuppenförmig, porzellanartig oder flacher, Bacterium-coli-ähnlich | schleimig, kuppenförmig | kuppenförmig, porzellanartig | kuppenförmig oder mehr flach Bacterium-coli-ähnlich | flach, Bacterium-coli-ähnlich oder kuppenförmig |
| Gasbildung in Traubenzuckeragar | nein | nein | ja | reichlich | ja |
| Säurebildung in Milchzuckerbouillon | Alkalibildung | nein oder sehr gering | ja | ja | ja |
| Koagulation der Milch | nein | nein | nein | ja | ja |
| Indolbildung | nein | nein | nein | nein | ja |
| Kartoffelwachstum | graubräunlich, keine Gasbildung | hellgrau, durchsichtig, gelegentlich Gasbildung | rahmartig, etwas gelblich mit Gasbildung | üppig mit Gasbildung | schwankende Gasbildung |
| Pathogenität für Versuchstiere | sehr gering | mittlere bis starke | mittlere bis starke | starke | mittlere oder starke |

Bevor wir nun daran gehen, unseren Bacillus mit den in dieser Tabelle zusammengestellten Typen Wildes zu vergleichen, möge es bemerkt sein, daß selbstverständlich, wie auch für die später zu erfolgende Besprechung anderer Einteilungen hierfür, dasselbe Geltung hat, was wir bezüglich des Vergleiches der verschiedenen „neuen Kapselarten“ untereinander gesagt haben: Es kann die Beurteilung des Verhältnisses von Bakterien zueinander auf Grund von Merkmalen, die von verschiedenen Untersuchern erhoben wurden, immer nur mit Reserve vorgenommen werden. So ist z. B. beim Vergleiche der positiven Indolreaktion unseres Bacillus und Wildes Typus V eine Uebereinstimmung beider in dieser Richtung deshalb nicht ohne weiteres anzunehmen, weil über den Zeitpunkt des Auftretens dieser Reaktion bei dem „Bacillus aus Erde“, dem einzigen Vertreter des Typus V, von Wildes nichts angegeben wird, dieser Zeitpunkt aber mit Rücksicht auf das Verhalten unseres Bacillus nicht unwichtig erscheint. Wenn wir nun die für die Einteilung Wildes maßgebenden Merkmale unseres Bacillus mit den entsprechenden der fünf Typen — so weit es möglich ist — vergleichen, so finden wir diese Merkmale in allen fünf Typen verteilt: Die Gelatinekolonieen lassen sich am ehesten mit jenen des Typus II vergleichen, die Gasbildung und Säurebildung (letztere von uns allerdings nicht in Milchzuckerbouillon geprüft) entspricht dem Typus III, IV und V, das Wachstum auf Kartoffel dem Typus II, die koagulierende Wirkung auf Milch dem Typus IV und V, die positive Indolreaktion eventuell dem Typus V (vergl. das oben Gesagte), die geringe Pathogenität dem Typus I. Es geht daraus hervor, daß wir diesen Bacillus in keine der Typen von Wilde einreihen können; aber auch ihm eine Ueber-

gangstellung unter diesen zuzuweisen, erscheint nicht recht möglich selbst wenn wir die in dem Wildeschen Schema fehlenden kulturellen Merkmale vernachlässigen, welchen doch unseres Erachtens eine gewisse Bedeutung nicht abgesprochen werden kann.

Strong untersuchte 13 verschiedene, zu den Kapselbacillen gerechnete Stämme hauptsächlich unter Berücksichtigung des Gas- und Säurebildungsvermögens in Zuckerkulturen und teilte sie in zwei Gruppe ein:

I. Gruppe Friedländer. „Die jungen Kolonieen sind farblos, werden mit dem Alter weiß, Kapseln im Tierkörper leicht zu färben, auf künstlichem Nährboden Pseudokapseln. Gasbildung am reichsten bei Zusatz von Rohrzucker, weniger bei Traubenzucker, sehr wenig oder gar nicht bei Milchzucker. Keine Säurebildung in Milchzuckerbouillon, keine Milchgerinnung."

II. Aërogenes-Gruppe. „Kolonieen von Anfang an weißlich. Kapseln auch im Tierkörper schwer zu färben. Keine Pseudokapseln in künstlichen Nährböden, reichliche und beständige Gasbildung bei Zusatz aller drei Zuckerarten. Gleiche Säurebildung in allen drei Arten von Zuckerbouillon. Schnelle Milchgerinnung."

Wenn wir uns auch hier auf den Vergleich der von Strong berücksichtigten Merkmale beschränken und alle anderen Kennzeichen unseres Bacillus außer acht lassen, können wir doch auch auf Grund dieser Einteilung bezüglich der Stellung unseres Bacillus zu keinem Schlusse kommen. Wir haben allerdings unsere Untersuchungen nicht in der Richtung Strongs geführt, können daher über einige Punkte seiner Einteilung nichts aussagen; trotzdem ergeben sich schon aus dem Aussehen der Kolonieen und dem Verhalten der Milchkultur Widersprüche, die eine Einreihung des Bacillus nicht möglich machen. Einerseits steht das Aussehen der „von Anfang an weißlichen" Kolonieen der „Aërogenes-Gruppe" im Gegensatze zu dem Aussehen der Kolonieen unseres Bacillus, anderseits würde die Milch-koagulierende Wirkung unseres Bacillus es nicht erlauben, ihn in die „Gruppe Friedländer" von Strong zu stellen.

Aehnlich wie Strong teilt auch Clairmont die Kapselbacillen, von welchen er 35 Stämme untersucht hat, in zwei Gruppen:

Typus I. Bacillus mucosus capsulatus.
Typus II. Bacillus aërogenes.

In diesen unterscheidet Clairmont wieder einige Unterabteilungen:

ad I. Species 1: Friedländer, Abel-Löwenberg, mit 2 Varietäten.
Species 2: Fasching.
Species 3: v. Frisch, Paltauf-v. Eiselsberg, (Sklerombacillus).

ad II. Species 1: Pfeiffer.
Species 2: Varietät α: Escherich; Varietät β: (Bac. coli immobilis Wilde).

Die Unterscheidungsmerkmale der beiden Hauptabteilungen decken sich — soweit zu entnehmen ist — mit jenen, welche Clairmont zur Abgrenzung des B. pneumoniae und B. lactis aërogenes benützt. Wir haben sie oben angeführt.

Unser Bacillus hat auch mit jedem dieser Typen manche Merkmale gemeinsam, durch andere unterscheidet er sich von beiden. Aber auch

die gemeinsamen Merkmale, die er z. B. in Bezug auf die Gerinnung der Milch und etwa der Säurebildung mit dem Typus II, in dem mikroskopischen Bilde der Kolonieen auf Agar, in der Farbe des Rasens auf schief gelegtem Agar nach längerem Wachstum eher mit dem Typus I teilt, erlauben weder eine Einreihung in eine dieser Typen noch in die Unterabteilungen und auch eine Uebergangstellung erscheint uns nicht annehmbar.

Es erlaubt somit keine der angeführten Einteilungen die Einreihung unseres Bacillus.

Die Aufgabe einer Einteilung der Kapselbacillengruppe ist eine schwierige: es stehen für dieselbe nur wenige Hilfsmittel zur Verfügung, manche, die sich zur Abgrenzung anderer Bakterien verwerten ließen, versagten gerade bei dieser Gruppe. Eine erschöpfende Einteilung der Kapselbacillen, in die auch eine Einfügung neu hinzukommender Arten möglich wäre, erscheint uns durch die bisherigen Versuche nicht gegeben.

Dem Vorstande des patholog.-anatomischen Institutes, Herrn Hofrat Prof. Weichselbaum, sowie Herrn Prof. Ghon, Assistenten des Institutes, danke ich ergebenst für das dieser Arbeit zugewendete Interesse.

**Literatur.**

1) Wilde, M., Ueber den Bacillus pneumoniae Friedländers und verwandte Bakterien. [Inaug.-Diss.] Bonn 1896.
2) Fricke, C., Ueber den sogenannten Bacillus mucosus capsulatus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIII. 1896.)
3) Kruse, W., Bacillen, in Flügge, Mikroorganismen. Teil II. Leipzig 1896.
4) Clairmont, P., Differentialdiagnostische Untersuchungen über Kapselbakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1902.)
5) de Simoni, A., Ueber das nicht seltene Vorkommen von Frischschen Bacillen in der Nasenschleimhaut des Menschen und der Tiere. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXV. 1899.)
6) Klemperer und Scheier, Ueber die Identität der Ozaena- und der Rhinosklerombacillen mit Friedländerschen Bacillen. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XLV. 1902.)
7) Grimbert et Legros, De l'identité du bacille lactique aérogène et du pneumobacille de Friedlaender. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1900.).
8) Passet, Ueber Mikroorganismen der eitrigen Zellgewebsentzündung des Menschen. (Fortschr. d. Med. Bd. III. 1885.)
9) Alvarez, Sur un nouveau microbe, déterminant la fermentation indigotique et la production de l'indigo bleu. (Comptes rendus. T. CV. Ref. Baumgartens Jahresber. 1887.)
10) Bordoni-Uffreduzzi, Ueber den Proteus hominis capsulatus und über eine neue durch ihn erzeugte Infektionskrankheit des Menschen. (Zeitschr. f Hyg. Bd. III. 1888.)
11) Banti, G., Sopra quattro nuove specie di protei o bacilli capsulati. (Dal Giornale Medico: Lo Sperimentale. Agosto 1888. Ref. Baumgartens Jahresber. 1888.)
12) Mori, R., Ueber pathogene Bakterien im Kanalwasser. (Zeitschr. f. Hyg. 1888.)
13) Pfeiffer, R., Ueber einen neuen Kapselbacillus. (Zeitschr. f. Hyg. 1889.)
14) Strong, Ueber die Kapselbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXV. 1899.)
15) Gessner, C., Ueber die Bakterien im Duodenum des Menschen. (Arch. f. Hyg. Bd. IX. 1899.)
16) Grace, C. Frankland und Percy F. Frankland, Ueber einige typische Mikroorganismen im Wasser und im Boden. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI. 1899.)
17) Kreibohm, A., Ueber das Vorkommen pathogener Mikroorganismen im Mundsekret. [Inaug.-Diss.] Göttingen 1889. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. 1890.)
18) Foà und Bonome, Ein Fall von Septikämie beim Menschen mit einigen Kennzeichen der Milzbrandinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. 1889.)
19) Weichselbaum, Beiträge zur Aetiologie und pathologischen Anatomie der Endocarditis. (Zieglers Beiträge. Bd. IV. 1889.)

20) Mandry, G., Zur Kenntnis des Friedländerschen Bacillus und einer Abart desselben. (Fortschr. d. Med. Bd. VIII. 1890.)
21) Pansini, S., Bakteriologische Studien über den Auswurf. (Virchows Archiv. Bd. CXXII. 1890.)
22) Loeb, Ueber einen bei Keratomalacia infantum beobachteten Kapselbacillus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. X. 1891.)
23) Kockel, Ueber einen dem Friedländerschen verwandten Kapselbacillus. (Fortschr. d. Med. Bd. IX. 1891.)
24) Fasching, M., Ueber einen neuen Kapselbacillus (Bacillus capsulatus mucosus). Sitzungsber. d. mathem.-naturwissenschaftl. Klasse d. K. Akademie d. Wissensch. Bd. C. Abt. III. 1891.)
25) Lafar, Bakteriologische Studien über Butter. (Archiv f. Hyg. Bd. XIII. 1893.)
26) Lucet, A., Recherches bactériologiques sur la suppuration chez les animaux de l'espèce bovine. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. VII. 1893.)
27) Paulsen, Ed., Ueber einen schleimbildenden Kapselbacillus bei atrophierenden Rhinitiden. (Mitteilungen f. d. Verein schleswig-holstein. Aerzte. Neue Folge. Bd. II. 1893. Ref. Baumgartens Jahresber. 1893 u. Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893.)
28) v. Dungern, Em., Ein Fall von hämorrhagischer Sepsis beim Neugeborenen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893.)
29) Stern, R., Zur Kenntnis der pathogenen Wirkung des Colonbacillus beim Menschen. (Deutsche med. Wochenschr. 1893.)
30) Marchand, Ueber einen noch nicht näher bekannten Kapselbacillus. (Sitzungsber. d. Ges. z. Beförderung d. gesamten Naturwissenschaften in Marburg. 1893. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. 1894.)
31) Nicolaier, A., Ueber einen neuen pathogenen Kapselbacillus bei eitriger Nephritis. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. 1894.)
32) Herla, V., Sur un nouveau bacille capsulé. (Arch. de biologie. T. XIV. 1896.)
33) Chiari, Ueber einen als Erreger einer Pyohämie beim Menschen gefundenen Kapselbacillus. (Prager med. Wochenschr. 1895.)
34) Sachs, M., Zur Kenntnis der durch den Pneumoniebacillus (Friedländer) verursachten Erkrankungen. (Zeitschr. f. Heilkunde. Bd. XXIII. Neue Folge III. 1902.)
35) Wright und Mallory, Ueber einen pathogenen Kapselbacillus bei Bronchopneumonie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895.)
36) Banti, Ein Fall von infektiösem Icterus levis. (Deutsche med. Wochenschr. 1895.)
37) Wicklein, E., Chronischer Leberabsceß, verursacht durch einen Kapselbacillus (Bacillus capsulatus Pfeiffer?) (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII. 1895.)
38) Herzfeld und Herrmann, Ein neuer Kapselbacillus, gezüchtet aus Kieferhöhlen-Nasensekret. (Hygien. Rundschau. Bd. V. 1895.)
39) Howard, W. J., The importance of the Bacillus mucosus capsulatus (B. of Friedländer) as the cause of acute and chronic infections. (The Philadelphia Medical Journal. 1898.)
40) Hamilton, H., Ueber einen aus China stammenden Kapselbacillus (Bacillus capsulatus chinensis nov. spec.). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898.)
41) Müller, Ein Beitrag zur Kenntnis der Kapselbacillen. (Deutsch. Archiv f. klin. Medizin. Bd. LXIV. 1899.)
42) de Simoni, A., Di una varietà di Bacillus mucosus (bacillo mucoso tenace) nun rara nel secreto ozenatoso. (Ufficiale sanitario [Rivista d'Igiene e di Medicina prestica]. Ref. Baumgartens Jahresber. 1899.)
43) — —, Beiträge zur Morphologie und Biologie der Mucosusbacillen der Ozaena und über ihre Identität mit dem Pneumoniebacillus. (Centrlbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVII. 1900.)
44) Blumer, George and Laird, Arthur J., Report of a case of fulminating hemorrhagic infection due to an organism of the Bacillus mucosus capsulatus group (Bull. of the Johns Hopkins hosp. Vol. XII. 1901.)
45) Mills, Méningite à pneumocoques. (Journal de médecine de Bruxelles. 1892. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. 1892.)
46) Clairmont, P., Zur pathogenen Bedeutung der Friedländerschen Pneumoniebacillen. (Wiener klin. Wochenschr. 1899.)
47) Dittrich, P., Zur Aetiologie des Rhinoskleroms. (Centralbl. f. Bakt. Bd. V. 1889.)
48) Zagari, G., Ricerche etiologiche sul rinoscleroma. (Giornale internaz. delle scienze mediche. 1899. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. VI. 1889.)
49) Paltauf, R., Zur Aetiologie des Skleroms des Rachens, des Kehlkopfes, der Luftröhre und der Nase (Rhinoskleroma). (Wiener klin. Wochenschr. 1891, 1892.)

# Bemerkungen zu der Abhandlung von Veszprémi: „Virulenzunterschiede verschiedener Tuberkelbacillenkulturen" in No. 3 und 4 dieser Zeitschrift.

Von Dr. **K. Vagedes.**

Veszprémi hat in der oben bezeichneten Arbeit meine den gleichen Gegenstand in dem XXVIII. Bd. der Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankh. 1898 behandelnden Mitteilungen einer mehrfachen Kritik unterzogen, die ich nicht ohne weiteres zu acceptieren in der Lage bin.

Von vornherein sei bemerkt, daß seine Versuche einen Vergleich mit den meinen, streng genommen, nicht zulassen, denn sie wurden ausnahmslos mit Kulturen angestellt, deren Herkunft entweder unbekannt ist oder sich von tuberkulös gemachten Meerschweinchen herleitet. Meine Kulturen dagegen waren, mit Ausnahme von vier, unmittelbar aus menschlichem Material gezüchtet; jene vier Ausnahmen betreffen nicht, wie Veszprémi angibt, solche, die „bemerkenswerterweise wiederholt durch Meerschweinchen geführt" waren, ehe die Reinkultur bewerkstelligt wurde, sondern von diesen Kulturen hatten drei je nur eine Passage durch ein Kaninchen durchgemacht, von dem aus sie dann reingezüchtet wurden, die vierte war vor der Reinzüchtung 2mal durch Kaninchen geschickt worden, hatte also eine doppelte Passage durchgemacht. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXVIII. p. 282 u. 283. No. XVI, XX, XXIX, XXX der Kulturen.)

Veszprémi bestreitet nun in seiner oben erwähnten Arbeit, daß verschieden große Mengen derselben Kultur verschieden stark ausgebreitete Miliartuberkulose hervorrufen, was er für weniger virulente Kulturen wieder zugibt.

Aus seinen Darlegungen geht nicht hervor, auf Grund welcher Versuche er hierin zu einem anderen Schlusse gelangte, als ich. Wie er angibt, hat er seine Versuche mit „ca. 3 mg" Bacillenmasse angestellt. Auch mir blieb dieser Unterschied in der Wirkung verschieden großer Injektionsmengen so lange verborgen, als ich mit 5—10 mg operierte, er trat aber zu Tage, als ich Aufschwemmungen von 1 : 20000 anwendete und kommt so in den Versuchen 38 u. 39, 44 u. 45, 55 u. 56, 59 u. 60, 61 u. 62 deutlich zur Geltung. Natürlich verwischt sich dieser Unterschied unter Anwendung mittelgroßer Injektionsmassen bei sehr virulenten und sehr avirulenten Kulturen, denn dort geben noch sehr kleine Mengen Veranlassung zu allgemeiner Tuberkulose (Versuch 57 u. 58), während bei avirulenten Kulturen verhältnismäßig große Mengen ohne allgemeine Wirkung bleiben (z. B. Versuch 47 u. 48 meiner Arbeit). Man muß also die Menge der injizierten Bacillen der Virulenz der Kultur anpassen, um zu erkennen, daß verschieden große Mengen derselben Kultur verschieden stark ausgebreitete Tuberkulose hervorrufen.

Sodann kann Veszprémi „eine Einteilung nach der Virulenz der verschiedenen Kulturen nicht acceptieren, wodurch die Intensität und Verbreitung der Tuberkelbildung vom Quantum der geimpften Kultur

abhängig gemacht wird". Diese Frage fällt mit der soeben erörterten sachlich zusammen und bedarf um so weniger der Besprechung, als Veszpr. p. 257 selbst sagt: „Bei mittelmäßiger Virulenz erzeugen ebenfalls nur eine große Anzahl von Bacillen Tuberkel" und von den virulenten Kulturen „selbst wenige Bacillen starker Virulenz können schon Tuberkel verursachen"; sie „besitzen eine ziemlich große Fähigkeit zur Verbreitung und überschwemmen den Organismus." So macht er also selbst jene vorher nicht acceptierte Einteilung.

Die Einwände, die Veszpr. sonst gegen meine Versuche erhebt, daß ich „im allgemeinen gar kein Gewicht darauf legte, daß mit ein und derselben Kultur unter gleichen Umständen und Bedingungen mehr als ein Tier zu impfen" sei, daß ich nicht „die Entwickelung der Tuberkulose der mittels verschiedener Kulturen infizierten Tiere bei nach gleicher Zeit getöteten Tieren prüfte," daß ich nicht die Gewichtsverhältnisse der Tiere und namentlich nicht die Gewichtsschwankungen nach erfolgter Infektion beobachtete, scheinen mir weniger belangreich. Bei der großen Anzahl der anzustellenden Versuche habe ich von jeder Kultur mindestens je 2 Tiere geimpft, von denen das eine durchweg die Hälfte der Kulturmenge erhielt, die dem anderen eingespritzt wurde. Bei 10 Kulturen wurden zu anderer Zeit wieder je 2 Tiere geimpft und so gewissermaßen Stichproben auf die Zuverlässigkeit der erzielten Resultate gemacht (p. 288 meiner Arbeit). Die Verschiedenheit der Zeitlänge, die zwischen Beginn des Versuches und Beendigung desselben bei meinen Versuchen lag, könnte doch nur dann ins Gewicht fallen, wenn ich beispielsweise eine Kultur, die nach 40 Tagen in bestimmter Menge allgemeine Tuberkulose hervorrief, für virulenter hielte, als eine solche, die nach 20 Tagen eine geringere Wirkung entfaltete. Daß ich derartige Fehler nicht gemacht habe, zeigt meine Versuchsübersicht.

Die Gewichtsverhältnisse der Tiere habe ich, wie aus p. 294 Abs. 4 hervorgeht, wohl berücksichtigt, ohne aber, ebenso wie scheinbar Veszpr., zu bindenden Schlüssen zu gelangen.

Bei meinen Versuchen war ich von vornherein bestrebt, eine Uebersicht zu erlangen, ohne mich in Einzelheiten zu verlieren. Ausdrücklich habe ich (p. 294 Abs. 2) hervorgehoben: „Wie aus der Versuchsübersicht hervorgeht, können in der Menge der gebildeten Knoten bei den der Virulenz nach zu einer Klasse gehörigen Stämmen noch beträchtliche Unterschiede bestehen, die gewählte Einteilung soll nur dazu dienen, die allgemeine Uebersicht zu erleichtern."

Zu einem gleichen Schluß, daß Virulenzunterschiede bei Tuberkelbacillenstämmen verschiedener Herkunft bestehen, ist Veszpr. auch gekommen; ich freue mich, in der Sache eins mit ihm zu sein.

---

*Nachdruck verboten.*

# Ein Schlusswort zur Meningokokken-Polemik.

Von Prof. **H. Jaeger,** Generaloberarzt in Straßburg i. E.

Auf die neuesten Auslassungen der Herren Albrecht und Ghon werde ich mich mit dem Schlußwort von meiner Seite zu dieser Polemik sehr kurz fassen.

Wenn man das Polemische des persönlichen Angriffs ausschaltet, so bleibt als wissenschaftlicher Rest die Frage: Ist dem Meningococcus ein gewisser Grad des Variierens zuzuschreiben oder hat man es mit einem streng Gram-negativen, nur bei Brüttemperatur wachsenden, äußerst fragilen Coccus zu tun, der sich durch diese Merkmale mit Konstanz von anderen Kokken unterscheidet? Ausschlaggebend für die Beurteilung dieser Frage ist die spezifische Agglutinationsprobe, das Verhalten der fraglichen Kokken gegenüber dem Serum mit spezifischen Kokken immunisierter Tiere.

Seltsamerweise schweigen jetzt mit einem Male die Herren Albrecht und Ghon über ihre Studien in dieser Richtung, die sie in ihrer „sachlichen Kritik“ in Aussicht gestellt haben und von denen auch im Referate Grassbergers in der Hygienischen Rundschau berichtet wurde!

Ich habe im November und Dezember v. J. im Kochschen Institute für Infektionskrankheiten diese Frage auf dem Wege der Gewinnung von Agglutininen durch Immunisierung von Versuchstieren zu lösen unternommen und das ist vollkommen gelungen. Ich schicke also der ausführlichen Publikation dieser Arbeit folgendes voraus: Ich habe 2 Serien von Tieren, die eine mit einem meiner Stämme, die andere mit einem Král-Weichselbaum-Stamm immunisiert und mit den so gewonnenen Sera eine ganze Reihe von Stämmen auf Agglutination geprüft, und zwar a) meine neueren Stämme aus Stuttgart, Berlin, Königsberg, b) die mir von Plagge von der Darmstädter Epidemie überlassenen Stämme, c) zwei mir von Czaplewski freundlichst überschickte Stämme, deren einer von Albrecht herrührt, der andere mir als „Original Weichselbaum von Král“ bezeichnet wurde, d) den mir von Král als Men. Weichselbaum übersandten Stamm in zweien der früher von mir beschriebenen Varietäten, nämlich: „Staphylokokkentypus dünn“ und „Streptokokkentypus“. Diese sämtlichen Stämme gaben das Phänomen der Agglutination in ausgesprochener Weise, einerlei ob der Stamm Weichselbaum mit Serum des Stammes Jaeger geprüft wurde oder umgekehrt, oder ob die Prüfung mit dem homologen Serum vorgenommen wurde. Insbesondere also erhielt ich Agglutination der von Czaplewski bezogenen Stämme „Albrecht“ und „Weichselbaum“ mit dem Serum der Tiere, die mit der von mir von Král bezogenen Weichselbaum-Kultur immunisiert waren. Staphylokokken dagegen, ferner der Micrococcus quadrigeminus Czaplewski und verschiedene aus Luft, Angina u. s. w. gewonnene Kokken verhielten sich vollkommen indifferent gegen das spezifische Serum.

Ich überlasse es nunmehr den Fachgenossen, zu beurteilen, ob ich mit richtigen Meningokokken gearbeitet habe oder ob durch meine Ar-

beiten, wie die Herren A. u. G. in ihrer sogenannten „rein sachlichen Kritik“ behaupten, nur Verwirrung angerichtet worden ist. — Polemik und Prioritätsstreit sind nicht von mir heraufbeschworen.

Den Vorwurf aber, etwas der Wahrheit Zuwiderlaufendes ausgesprochen zu haben, weise ich zurück. Wenn ich sage, ich war der erste, der die grundsätzliche Artverschiedenheit des Weichselbaumschen Coccus vom Pneumococcus Fraenkel betont hat, so ist das richtig, denn die Diskussion Bordoni-Uffreduzzi, Bonome u. s. w. schloß damit ab, daß jedermann den Coccus Weichselbaum für eine Varietät des Pneumococcus Fraenkel erklärte, und Weichselbaum hat sich dazu mit keinem Worte mehr geäußert. Und ich wiederhole: Ich bin der erste gewesen, der den vergessenen Meningococcus Weichselbaums nach 7 Jahren wieder ausgegraben, seine selbständige Stellung in der Systematik zur Anerkennung gebracht und seine ätiologische Bedeutung für die epidemische Genickstarre erkannt hat. Ich habe in honettester Weise von meiner ersten Publikation an Weichselbaums Verdienste in vollem Umfange hervorgehoben, ich hatte also einen solchen Vorwurf am wenigsten erwartet.

Daß mein Buch erst nach dem Aufsatz von Albrecht und Ghon erschienen sei, widerspricht den Thatsachen: Das abgeschlossene Manuskript ist von mir am 14. März 1901 dem Herrn Herausgeber eingesandt worden. Die ersten Exemplare sind am 30. September ausgegeben worden. Die Arbeit von Albrecht und Ghon ist in No. 41 der Wiener klinischen Wochenschrift vom 10. Oktober 1901 erschienen.

---



# Bakteriologische Untersuchungen bösartiger Geschwülste.

Von Prof. **Roberto Alessandri,**
außerord. Prof. für pathologische Chirurgie an der Kgl. Universität Rom.

Die Mehrzahl der Forscher, welche Kulturen von bösartigen Geschwülsten untersuchten, hat hierbei teils widersprechende, teils zweifelhafte Resultate erhalten; das veranlaßte mich, von dem reichen Material Nutzen zu ziehen, das mir in der chirurgischen Klinik unter den besten Bedingungen der Asepsis und in ganz frischen Stücken zur Verfügung stand.

Ich untersuchte daher während des verflossenen Rechnungsjahres 1901—1902 Kulturen von sämtlichen bösartigen Geschwülsten, die in der chirurgischen, von Prof. Francesco Durante geleiteten Klinik zu Rom operiert wurden.

* * *

Die parasitären Theorieen über die Aetiologie der bösartigen Geschwülste will ich übergehen und mich darauf beschränken, an die Arbeiten von Sanfelice zu erinnern; dieser behauptete, daß die Russellschen Körper und der größte Teil der von zahlreichen Forschern als Coccidien oder Degenerationen von Zellen oder Nukleen beschriebenen Formen Blastomyceten seien. Er erhielt dieselben Formen durch Inokulationen von Hefen beim Tiere; nach diesen Arbeiten betrat man mit Begeisterung den neuen Weg und versuchte auf verschiedene Weise die blastomycetische Aetiologie der bösartigen Neubildungen zu zeigen,

teils mit Hilfe histologischer Methoden, teils durch Einimpfung von Blastomyceten verschiedenen Ursprungs im Tiere, teils durch Kultivierung der direkt aus den Tumoren erhaltenen Blastomyceten.

Wenn nun auch aus all diesen Untersuchungen zweifellos hervorgeht, daß es einige Blastomyceten gibt, die mit pathogenen Eigenschaften ausgerüstet sind, und daß sie bei verschiedenen pathologischen Prozessen erhalten werden, so ist doch die Spezialfrage nach der Aetiologie der bösartigen Tumoren trotz der entgegenstehenden Behauptungen der betreffenden Forscher der Lösung noch nicht nahegerückt.

Ich beschränke mich auf die Untersuchungen von Kulturen aus Geschwülsten. Hier verdient Sanfelice Erwähnung, welcher zuerst Blastomyceten von Epitheliomen der Lippe, des Uterus und der Brüste erhielt; doch sagt er selbst, daß es stets sehr spärliche Kolonieen waren, so daß der Zweifel, ob sie nicht etwa aus der Luft stammten, nicht behoben ward; er macht bei seinen Experimenten lieber Gebrauch von Blastomyceten, die er aus der Luft erhalten hat (S. neoformans).

Busse behauptet, vor S. einen Blastomyceten aus einem Sarkom des Schienbeines erhalten zu haben; doch scheint es sich hier in Wirklichkeit um eine subperiostale Entzündung zu handeln. Erst in viel späteren Arbeiten behauptet er, daß es ihm gelungen sei, Blastomyceten aus Nasenpolypen, aus einem Sarkom und aus Lippenkrebsen zu züchten.

Kahane teilt mit, daß er sie aus einem Uteruskrebse erhalten habe, Curtis aus einer Wunde, von der es sehr zweifelhaft ist, ob sie ein Tumor war (Myxosarkom oder Pus?).

Corsetti und Frisco erhielten sie aus einem Lymphosarkom des Gekröses, doch auch ihr Befund ist sehr zweifelhaft.

Pianese erhielt solche aus zwei Epitheliomen der Brüste, doch schreibt er ihnen keine pathogenetische Bedeutung zu.

Roncali fand in 38 Tumoren 3mal einen speziellen Blastomyceten, und zwar bei einem Epitheliom der Zunge, bei einer axillaren Metastase eines Sarkoms der Brust sowie bei einem Drüsencarcinom des Colon; einmal erhielt er eine Species von Oidium bei einem Myxosarkom der Brust.

Plimmer fand unter 1278 Fällen von Krebs nur bei 9 zahlreiche cellulare Einschlüsse, und bei einem (Epitheliom der Brust) gelang es ihm, Kulturen eines Pilzes zu bekommen, den er nicht definiert; Sanfelice behauptet von ihm, er sei identisch mit seinem Saccharomyces neoformans. Er machte Kulturversuche bei Luftabschluß auf einem Nährboden, der aus dem Aufguß einer Krebsgeschwulst mit Glycerin und Weinsäure hergestellt war.

Biagi erhielt Kulturen von Blastomyceten von einem Myxosarkom aus der Kniekehlengegend.

Mafucci und Sirleo fanden 6mal Blastomyceten unter 39 Fällen von Tumor beim Menschen und bei Tieren; doch halten sie den Befund für zufällig.

Bonome fand sie 8mal bei 23 Fällen von Tumor bei Leichnamen, wo die Tumoren entweder vereitert waren oder sich an der Oberfläche befanden.

Cona fand solche bei einem Sarkom der Brust; das Geschwür war jedoch lange Zeit dem Luftzutritt ausgesetzt gewesen.

Leopold fand Blastomyceten 4mal unter 20 Fällen von Carcinom bei den im Becken liegenden Organen.

Ich will nun nur noch kurz auf die Untersuchungen von Bra hinweisen, welcher erklärt, daß er stets nicht nur aus Tumoren, sondern auch aus dem Blute Krebskranker einen Pilz erhalten habe, der nach den Beschreibungen ein Blastomycet zu sein scheint; ferner auf die von Doyen, der einen kettenförmigen Micrococcus fand in fast 400 Fällen, zu denen auch solche von Fettgeschwulst des Funiculus gehörten; endlich möchte ich auch noch die Versuche von Max Schüller anführen, der nicht gut definierte Körper bei neoplastischen oder syphilitischen Bildungen beschreibt.

* * *

Meine Untersuchungen wurden an 33 Tumoren ausgeführt, von denen 9 auch noch Metastase in Lymphdrüsen zeigten; diese wurden herausgenommen und gleichfalls der Untersuchung unterworfen; im ganzen also 42 Objekte.

Ich habe stets einen festen glykose- und säurehaltigen Nährboden angewandt; dieser hatte sich nach meinen Untersuchungen, die im hygienischen Institut zu Rom mit Blastomyceten verschiedenen Ursprungs (Obst, Faeces, Luft) angestellt worden waren, als der geeignetste für die rasche und kräftige Entwickelung der Hefen erwiesen; wenn nämlich auch in den ersten Tagen fremde Keime zufällig hineinfallen, so entwickeln sie sich nur schwer.

Den Abend vor der Operation stellte ich 2 oder mehr Röhrchen mit Agar, der mit Glycerin vermischt war, ins Wasserbad und fügte 6—8 Tropfen einer Lösung von 50 g Glykose und 10 g Weinsäure in 100 ccm Wasser hinzu; die Lösung war sterilisiert und wurde in Reagiercylindern aufbewahrt. Der so vorbereitete Nährboden wurde 10 Minuten lang im kochenden Wasserbade belassen und dann in sterilisierte Petrische Kapseln gegossen; diese wurden, nachdem der Agar eben fest geworden, sofort in den Thermostaten gebracht und umgestürzt, um das kondensierte Wasser zu entfernen.

Sobald die Stücke von dem Patienten weggenommen waren, wurden sie entweder gänzlich oder nur derjenige Teil, den ich aussäen wollte, in eine der ausgekochten Operationskompressen eingehüllt und ins Laboratorium gebracht; dann schnitt ich ein zentrales Stück mit einem ausgeglühten und abgekühlten Messer ab, brachte dasselbe in einen Glasmörser und zerschnitt es so fein als möglich mit der Schere, zerrieb es dann mit dem Pistill und fügte, wenn nötig, eine geringe Menge destillierten Wassers oder steriler Fleischbrühe zu. Der so erhaltene Brei wurde mit einem Spatel in die Petrischen Schalen gebracht, die dann sofort, stets umgekehrt, in den Thermostaten gesetzt wurden.

Ich hatte stets im Auge, ein durch Arbeiten an der freien Luft hervorgerufenes Hineinfallen von Keimen zu vermeiden, und wandte deshalb nach den ersten Versuchen einen geschlossenen Kasten mit Glaswänden an, der nach den Angaben von Casagrande gebaut war. An diesem befanden sich 2 Oeffnungen zum Einführen der Hände; am Rande der Oeffnungen waren Aermel befestigt, welche sich fest an die Pulse der Hände anlegen. Der ausgewaschene Kasten wurde den Tag zuvor sterilisiert, indem man im Inneren eine Formalinpastille verbrannte, nachdem zuvor mit Watte jegliche Ritze verschlossen worden war; so konnte ich, gesichert vor jeglicher Verunreinigung, jede Handbewegung ausführen und die Bewegung des Materials so weit treiben,

bis ich wirklich einen halbflüssigen Brei bekam, den ich dann auf die Platten aussäte.

Von ulcerierten Geschwülsten nahm ich stets Stücke aus der Tiefe; bisweilen fanden sich unter ihnen teilweise erweichte mit cystischen Höhlungen; ich habe dann die Erweichungsprodukte und die flüssigen Anteile der Höhlungen direkt entnommen; doch habe ich stets gleichzeitig weitere Aussaaten von noch nicht weich gewordenen Teilen aus verschiedenen Schnitten des Tumors gemacht. Auf diese Weise habe ich von jedem Tumor stets mindestens 2—3, meistens jedoch 4—5, manchmal 6—8—10 Platten hergestellt.

Die untersuchten Tumoren waren 23 Epitheliome, 8 Sarkome, 1 papilliferes, rückfälliges Drüsencystom der Brust, 1 Hypernephrose der Niere und Nebenniere.

Von den 23 Epitheliomen stammten 6 von der Brust; von diesen 6 waren 5 einfach drüsig und 1 atrophisch; 8 Epitheliome stammten vom Uterus, von diesen 6 vom Halse, 1 vom Kanal, 1 vom Körper, 1 rezidiviertes vom inneren Winkel eines Auges, 1 von dem Mundwinkel und 1 schleimiges von der Wange, 1 rezidiviertes von der Zunge, 1 von der Lende, das auf einer starken Brandnarbe saß, 1 rezidiviertes von einer Parotisgeschwulst, 1 aus dem Magen, 1 vom Blinddarm und vom aufsteigenden Teil des Mastdarmes, 1 vom Colon. Wie schon erwähnt, wurden außerdem in 9 Fällen krebsartige Lymphganglien entnommen und der Untersuchung unterworfen.

Von den 8 Sarkomen hatten 5 runde Zellen, 1 rezidiviertes stammte von dem unteren Augenlid, 1 rezidiviertes von der Scapula, 1 von den Sehnenscheiden des Streckers der Finger, 1 von dem Hoden, 1 zum 6. Male rezidiviertes vom Bein; 1 war mit spindelförmigen Zellen versehen und stammte von der großen Krümmung des Magens; 1 war ein Fibrosarkom, rezidiv, vom Vorderarm, 1 war ein Endotheliom vom Kopf des 3. Mittelhandknochens, rezidiv.

* * *

In allen diesen Fällen ergab nun die Untersuchung auf Blastomyceten beständig ein völlig negatives Resultat.

Die Verteidiger der Lehre vom blastomycetischen Ursprung der bösartigen Geschwülste erklären die negativen Resultate der Kulturen durch die besonderen Bedingungen, unter denen sich die genannten Blastomyceten in den Geweben befinden. Sie setzen hinzu, daß die Körper von Russell nichts anderes seien als Blastomyceten im Zustande von Dauerzellen mit widerstandsfähiger und verdickter Kapsel, die infolgedessen sehr schwierig zu kultivieren seien; überdies seien nach den Versuchen von Sanfelice über Saccharomycetolyse die Blastomyceten geradezu abgestorben und daher müßten denn die Kulturversuche beständig negativ sein.

Positive Kulturergebnisse würden jedoch in diesem Falle unerklärlich sein; auch widerstrebt einem a priori die Annahme, daß abgestorbene Pilze einen Prozeß zu einer so eminent progressiven Entwickelung führen sollen; es müßten vielmehr stets lebendige und deshalb kultivierbare Pilze vorhanden sein; doch gestehe ich zu, daß noch keine Veranlassung vorliegt, auf diese Frage einzugehen oder Erklärungen oder kritische Theorieen auszusprechen.

Ich beschränke mich also darauf, das negative Resultat der Versuche

anzugeben und möchte nur hervorheben, daß in diesen Fällen bei der Reichhaltigkeit des Materials, vor allem der Frische der Präparate, den angewandten Vorsichtsmaßregeln und den benützten Nährböden doch die Bedingungen für einen Erfolg äußerst günstig lagen.

Ich befinde mich hier in Uebereinstimmung mit Richardson, der nach seinen Mitteilungen im 1. und 2. Jahresbericht des Cancer-Committee im chirurgischen Berichte der Harveyan medical school (Oktober 1900 und Februar 1901) bei seinen Kulturversuchen beständig negative Resultate erhielt.

Ich bemerke, daß ich bei allen Stücken, von denen ich Kulturversuche gemacht habe, gleichzeitig eine mikroskopische Untersuchung der Schnitte ausführte; ich prüfte auf das Vorhandensein besonderer mit Fuchsin färbbarer Körper oder nach einigen AA genannten Blastomyceten. Im allgemeinen habe ich die Gramsche Methode angewandt bei zuvor mit Karmin gefärbten Schnitten.

In allen Fällen ergab nun die mikroskopische Untersuchung positive Resultate; in den meisten Fällen waren die Gebilde spärlich, aber stets vorhanden, ausgenommen im Falle des ulcerierten On den Epithelioms des Oberschenkels; hier konnte ich sie jedoch bei einer krebsigen Leistendrüse nachweisen.

* * *

Ferner möchte ich anführen, daß ich unter den vielen Platten, die ich besät habe, 2mal, und zwar das erste Mal im Falle des Fibrosarkoms des Vorderarmes, dann im Falle des spindelzelligen Sarkoms des Magens am 2. Tage einige wenige Kolonieen in der Aussaat erhalten habe, welche in unmittelbarer Berührung standen mit den neoplastischen Fragmenten, die auf dem Agar zerstreut waren. Die Kolonieen waren rund, weiß, körnig, mit unbestimmten Umrissen; bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sie große, sphärische und ovale Formen mit doppelten Umrissen; einige befanden sich im Keimstadium; dem ersten Anblick nach hielt ich sie für Blastomyceten.

In den folgenden Stadien jedoch wurden die Formen immer kleiner; unter ihnen blieben indes noch Gebilde, die bis zur Dimension eines roten Blutkörperchen groß waren; so gaben die aus den Bouillonkulturen oder gewöhnlichem Agar erhaltenen Präparate einen charakteristischen Befund infolge der großen Verschiedenheit der Formen; neben äußerst kleinen Körperchen, die selten zu zweien oder in eine Kette, sehr selten zu vieren vereinigt waren, befanden sich große Gebilde, die an Blastomyceten erinnerten, einige mit doppelten Umrissen, einige sprossend; ihr Inhalt ist jedoch nicht körnig.

Diese großen Formen verschwinden mehr und mehr, so daß die Präparate schließlich nur die kleinen Formen zeigen, die in Gruppen zu vieren vereinigt sind, ganz wie eine Sarcina aussehend; ich dachte deshalb schon an eine Verunreinigung wie daran, daß die erste vermutete Kultur von Blastomyceten verloren gegangen wäre.

Da erschienen hier und dort in einigen Präparaten die großen Formen wieder; weiter zeigte die Aussaat auf glukosierten und gesäuerten Böden von neuem in reichlicher Weise große Formen und schließlich ließen die Präparate im hängenden Tropfen in Bouillon, die fixiert und mit Paraffin eingeschlossen waren, unter dem Mikroskop das fortschreitende Wachstum einiger Individuen erkennen, die schon nach 24 Stunden

jenen der ersten Kulturen glichen; sie zeigten doppelte Umrisse und deutliche Sprossung.

So belassen, erreichte das Individuum die Größe eines roten Blutkörperchens, zeigte einen doppelten, sogar einen dreifachen Umriß, körnigen und fast filamentartigen Inhalt. Allmählich verblaßte es, wuchs nicht mehr; eine wahre und völlige Sprossung oder Teilung konnte man nicht beobachten.

Wie gesagt, erhielt ich diese besondere polymorphe Kultur, welche ich zunächst für eine solche von Blastomyceten hielt, aus einem Fibrosarkom des Unterarmes und nach einer Zeitdauer von 2 Monaten aus einem spindelzelligen Sarkom des Magens; in beiden Fällen waren die charakteristischen Merkmale bei den Kulturen und unter dem Mikroskop identisch.

Mit den Bouillonkulturen machte ich bei Tieren subkutane und intraperitoneale Injektionen, jedoch ohne Resultat. Einige Tiere starben von selbst nach einiger Zeit (10—25 Tagen), doch fand ich keine anatomische Veränderung, welche mir den Tod erklärt hätte; auch konnte ich den Pilz aus dem Blute oder den Organen nicht wiedergewinnen; andere befanden sich wohl und zeigten, als sie nach verschieden langer Zeit getötet wurden, keinen bemerkenswerten Befund.

Perez beschrieb in seinen im Laboratorium von Manfredi ausgeführten Arbeiten in den normalen Lymphganglien eine Sarcina, welche er a nennt und die nach ihren charakteristischen Merkmalen bei den Kulturen und unter dem Mikroskope völlig dem von mir aus den genannten Tumoren isolierten Mikroorganismus entspricht. Auch in diesem Falle bemerkt man eine außerordentliche Veränderlichkeit der Größe der Formen und die beständige Abnahme derselben in den Kulturen. Das von Perez isolierte Gebilde zeigt sich jedoch bei Tieren bisweilen als pathogen im Gegensatz zu den von mir isolierten, indem es Knoten von kleinzelliger Infiltration in der Leber erzeugt.

Doch auch hieraus will ich keinen Schluß ziehen. Die Vorsichtsmaßregeln, welche ich bei der Anlage der Kulturen anwandte und die besonderen Kennzeichen des Mikroorganismus, welchen ich isoliert habe, gestatten, eine zufällige Verunreinigung auszuschließen, um so mehr, als Platten, die der Laboratoriumsluft ausgesetzt waren, mir nur die gewöhnlichen Befunde an Bakterien und Sarcinen gaben, aber niemals jene besondere von mir beschriebene Art.

Ich möchte nur auf die Möglichkeit und die Leichtigkeit hinweisen, mit der man bei der anfänglichen Untersuchung diese Sarcinen mit Blastomyceten verwechseln kann und dies gegenüber möglichen Irrtümern und übereilten Schlüssen feststellen.

Es genügt z. B., die Figuren 2 und 3 der Tafel I der Arbeit von Corsetti und Frisco zu betrachten, um zu dem Gedanken zu kommen, daß sie es sehr wahrscheinlich mit einem ähnlichen Mikroorganismus zu tun gehabt haben.

---

# Weitere Untersuchungen über die Kleinsche tierpathogene Hefe.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Halle a. S. Direktor: Prof. Dr. Fraenkel.]

Von Dr. **Erich Cohn.**

Mit 2 Tafeln.

In No. 15, Bd. XXXI dieses Centralblattes (p. 739—748) habe ich über Versuche mit einer von Klein in London entdeckten Hefeart berichtet, welcher die Eigenschaft eines spezifischen Krankheitserregers für den Tierkörper in außergewöhnlich hohem Grade zukommt.

Die wichtigsten Ergebnisse dieser Versuche waren — um dies hier kurz nochmals zusammenzufassen — daß Mäuse ausnahmslos und an allerkleinsten Gaben (1-millionstel Oese Reinkultur) unter Erkrankungen der Lungen, Milzschwellung etc. bezw. nach intraperitonealer Infektion unter Bildung riesiger Hefetumoren zu Grunde gingen, während größere Tiere, soweit sie empfänglich waren, nach intravenöser Impfung Entzündungen der Schleimhäute, insbesondere der Augenbindehaut, und in späteren Stadien der Krankheit schwere Gehirn- und Rückenmarksstörungen bekamen. Diese Tatsachen haben auch in allen späteren Versuchen, über die im einzelnen zu berichten sich erübrigt, ihre Bestätigung gefunden: Hervorgehoben zu werden verdient nur, daß auch ein größerer Hund (im Gewicht von 7000 g) unter denselben Erscheinungen und dem nämlichen Obduktionsbefunde der Hefeinfektion erlag, wie dies in der vorigen Arbeit bei einem kleineren Tiere beschrieben worden war; und daß auch der damals noch vereinzelte Fall von multipler Knötchenbildung in der Haut beider Ohren eines Kaninchens inzwischen ein Analogon erhalten hat.

Die in den folgenden Zeilen niedergelegten Beobachtungen beziehen sich einmal auf besonders interessante Einzelheiten in der Morphologie unseres Sproßpilzes, ferner auf den Nachweis desselben im Gewebe, auf die Art der durch ihn bedingten lokalen Veränderungen und seine schädigende Einwirkung auf den Tierkörper im ganzen.

## Die Färbbarkeit der Hefe nach Gram in Beziehung zur Lebenstätigkeit derselben.

Während es eine altbekannte Tatsache ist, daß die Sproßpilze den Anilinfarben, insbesondere der Gramschen Methode, leicht zugänglich sind, hat man Veränderungen in der Gram-Färbbarkeit unseres Wissens bisher nur an sterile Dauerhefe beobachtet. Es ist nämlich nicht die Hefezelle als Ganzes, die sich in der genannten Weise intensiv färbt, sondern die Träger der Reaktion sind kleine Granula, welche den Zellleib freilich in solcher Masse erfüllen, daß derselbe gleichmäßig dunkelblau gefärbt erscheint. R. u. W. Albert[1]),

[1]) Albert, R. u. W., Chemische Vorgänge in der abgetöteten Hefezelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 737.)

und nach ihnen Trommsdorff[1]), haben nun in steriler Dauerhefe, wenn sie dieselbe bei Zimmer- oder besser bei Brüttemperatur in Flüssigkeiten mit oder ohne Zucker aufbewahrten, ein fast völliges Verschwinden der Gram-färbbaren Bestandteile beobachtet und dies auf die Tätigkeit eines proteolytischeu Enzymes zurückgeführt, also als eine Art von „Autodigestion der Zelle“ erklärt. Die nämliche Erscheinung, wenn auch nicht in so hohem Grade, haben wir nun aber unter anderen Verhältnissen auch an der lebenden Hefe bei unserer Species beobachtet und zwar lagen die Dinge hier so, daß die Agarkulturen entstammenden Zellen gleichmäßig gefärbt aussahen, während in Ausstrichpräparaten aus tierischen Geweben sich mehr oder weniger zahlreiche Granula innerhalb des Zellprotoplasmas zeigten, zu dessen Gegenfärbung, wir nach dem Vorgange der erwähnten Autoren Safranin, und zwar in 1-proz. wässeriger Lösung, benützten. Beide Erscheinungsformen der Hefen sind in unseren Abbildungen wiedergegeben. Da man in Bouillonkulturen, die ja unserer Hefe keine besonders günstigen Lebensbedingungen gewähren[2]), ebenfalls eine Abnahme an Gram-färbbarer Substanz bemerken kann, so spricht alles dafür, daß die äußere Umgebung hierauf Einfluß hat, und daß eine Verarmung an solcher Substanz während des Aufenthaltes im Tierkörper auf einer Schädigung der Zelle, vielleicht einer Auslaugung derselben durch die Körpersäfte, beruht. Zu einem völligen Verschwinden der Granula, wie bei der abgetöteten Dauerhefe, kommt es hier indessen nicht, weil offenbar in der lebenden Zelle ständig Ersatz geschaffen wird; unter Verhältnissen, wo viele Zellen schon zu Grunde gehen, z. B. im „Hungerzustande“ auf feuchten Gipsblöcken, kann man jedoch zahlreiche Individuen finden, die ihre Gram-färbbare Substanz völlig eingebüßt haben. Wir ziehen hieraus den mit der Ansicht der mehrfach genannten Forscher übereinstimmenden Schluß, daß diejenigen Zellen, die nur die Rotfärbung angenommen haben, wie auch einige auf unserer Abbildung I, als abgestorbene Gebilde zu erklären sind.

Ueber die Natur dieser auch unter anderen Verhältnissen öfter anzutreffenden Granula sind von seiten der Botaniker verschiedene Ansichten geäußert worden; indessen herrscht wohl soweit Uebereinstimmung, daß es sich hier um Dinge handelt, die den Protoplasmakörper und nicht etwa den Kern der Hefezelle angehen[3]).

## Der Kern der Hefezelle

erscheint vielmehr, wenn man sich der von H. Moeller angegebenen Färbemethode[4]) bedient, auch bei unserer Art als ein dunkler,

1) Trommsdorff, Ueber die Beziehungen der Gramschen Färbung zu chemischen Vorgängen in der abgetöteten Hefezelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 82.)

2) a. a. O. Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. p. 741.

3) Siehe über diesen Gegenstand außer den Genannten: Janssens, Beiträge zu der Frage über den Kern der Hefezelle. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIII. p. 639.) Hieronymus, Ueber die Organisation der Hefezellen. (Berichte d. deutschen botan. Gesellschaft. Bd. XI. p. 176.) Raum, Zur Morphologie und Biologie der Sproßpilze. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. X. p. 1.) Hirschbruch, Die Fortpflanzung der Hefezelle. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. No. 13, 14, 15, 20.)

4) Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. p. 358, bezw. Busse, Hefen. p. 15.

strukturloser, oftmals wandständiger Körper, ganz wie auf den von Moeller abgebildeten Photogrammen [1]). Herr Prof. Moeller hatte übrigens die Güte, mir zu bestätigen, daß in einem ihm übersandten Präparate, soweit nicht die Hefen abgestorben und degeneriert waren, die Kernfärbung gelungen war, und erteilte mir weiter noch den freundlichen Rat, zur Fixierung meiner Deckglaspräparate an Stelle der von ihm ursprünglich empfohlenen Jodjodkalilösung eine stark verdünnte Eiweißlösung anzuwenden, ein Verfahren, das sich ganz vorzüglich bewährte. Es sei mir gestattet, dem Genannten für die mir erwiesene Liebenswürdigkeit an dieser Stelle meinen ergebensten Dank abzustatten. — Bei der Färbung nach Romanowski sieht man ein blaugefärbtes (Plasma-)Centrum und in manchen Zellen spärliche, radiär gestellte, rote Chromatinsubstanz. Letztere will Zettnow, der sich mit dieser Färbung eingehend beschäftigt hat [2]), als Kernsubstanz angesehen wissen.

Ein sehr interessanter, auch anderen pathogenen Hefen eigener Bestandteil der Zelle, ist weiterhin

die Kapsel.

Dieselbe verleiht besonders dem frisch aus dem Tierkörper entnommenen Material ein charakteristisches Aussehen, indem sie die äußere Zellmembran in Form eines Ringes von beträchtlicher Breite umgibt, ein Bild, das genau so aussieht, wie es z. B. Curtis von seiner Hefe beschrieben und abgebildet hat [3]). Schon diesem Autor ist es aufgefallen, wie schwer die Kapsel Farbstoffen zugänglich war; wir machten in unserem Fall die gleiche Erfahrung, und wenn wir in der vorigen Abhandlung schrieben, daß die Kapsel bei Färbung mit Loefflerschem Methylenblau gut zur Darstellung käme, so bezieht sich dies doch nur, wie man an lebendem mit etwas Methylenblau oder Magentarot versetztem Material beobachten kann, auf einen inneren Ring von allerdings erheblicher Breite In ihrer ganzen Ausdehnung erkennt man die Kapsel, welche dasselbe Brechungsvermögen, wie die zur Aufschwemmung benützten Flüssigkeiten besitzt, in der Regel erst dann, wenn sich andere Elemente, tierische Zellen oder deren Trümmer, darum oder darunter lagern. Die zur Darstellung der Bakterienkapseln angegebenen Methoden, von denen wir eine größere Anzahl versuchten, erwiesen sich für unseren Zweck wenig geeignet und sind auch von anderen hierfür unseres Wissens noch nirgends empfohlen worden. Da bei Anwendung der Gram'schen Methode nicht nur die Kapsel, sondern auch ein großer Teil wandständigen Protoplasmas ungefärbt bleiben — es ist zunächst immer nur von der Hefe im Tierkörper die Rede — so bildet sich um das blaue Centrum ein weiter leerer Hof, dessen Gegenfärbung schon deshalb wünschenswert war, um ihn nicht als Kunstprodukt erscheinen zu lassen. Allein hierbei ergab sich die Schwierigkeit, daß die sonst üblichen Gegenfärbungen, wie Fuchsin, Eosin, Bismarckbraun, die genannten Teile entweder gleichfalls ungefärbt ließen oder aber nur dann färbten,

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. p. 53.
2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXX. p. 1, bezw. p. 5 u. 6.
3) Curtis, Contribution à l'étude de la saccaromycose humaine. (Annales de l'Institut Pasteur. T. X. p. 449; s. Tafel. Fig. IV, 1—5.)

wenn sie so intensiv zur Einwirkung gelangten, daß dabei die Gram-Färbung überdeckt wurde. Glücklicherweise erwies sich das Safranin, in der bereits erwähnten Anwendung, nicht nur als vorzügliches Färbemittel des Gram-negativen Protoplasmas, sondern auch der Kapsel, welche beide ein besonders leuchtendes, von dem rosafarbenen Untergrund sich abhebendes Rot annahmen, wie es auf unserer Abbildung II wiedergegeben ist.

Neben dieser, bei unserer Hefe nur im Tierkörper beobachteten Form der Kapsel, sahen wir in älteren Kulturen ständig eine andere Form auftreten, die sich ebenfalls mit Safranin intensiv färbte (s. Abb. I). Es handelte sich aber, wie man an frischen Präparaten sehen konnte, augenscheinlich um zwei verschiedene Bildungen, indem die Kapsel in den Kulturen nicht wie die im Tierkörper als breiter, zarter Ring die Hefezelle umgab, sondern einen schmäleren und dickeren, stark lichtbrechenden Mantel darstellte, der einfach aus einer Verdickung der äußeren Membran hervorgegangen zu sein schien. Solche Formen kamen übrigens, wenn auch seltener, im Tierkörper vor; die umgekehrte Erscheinung wurde dagegen niemals beobachtet. Busse[1]) und Curtis[2]) haben aber offenbar auch Hefen mit breiter, zarter Kapsel in Kulturen angetroffen. In jungen Kulturen vermißt man die Kapsel entweder ganz oder sie nur dadurch angedeutet, das bei enger Aneinanderlagerung der Zellen feinste Zwischenräume zwischen ihnen entstehen; mitunter gelingt auch hier die Safraninfärbung. Der Vorgang der Kapselbildung ist, da er immer gerade dann einsetzt, wenn der Sproßpllz in ihm in ungewohnte oder nicht mehr günstige Verhältnisse kommt, jedenfalls als eine den Umständen nach veränderliche Form der Schutzvorrichtung aufzufassen.

Um

die Hefen in Schnittpräparaten

nachzuweisen, sind von den verschiedenen Autoren, die sich damit beschäftigt haben, eine Reihe von Methoden angegeben worden, und schon die Zahl derselben spricht, wie in so vielen Fällen, dafür, daß es eine spezifische Methode eben nicht giebt. Wir haben die Verfahren von Busse[3]), Sanfelice[4]) und Curtis[5]) an unserer Hefe versucht, und müssen uns schließlich dem Urteil Sternbergs, der diese Dinge an einem weit größeren Material studiert hat, anschließen, wenn er der altbewährten Gramschen Färbung vor den verschiedenen vorgeschlagenen den Vorzug gibt[6]). Man darf nur, nach dem vorher Gesagten, nicht erwarten, die ganze Gestalt der Hefe gleichmäßig gefärbt zu finden, sondern sieht meist nur ein gekörntes, wie angenagt aussehendes Centrum, inmitten eines breiten, hellen Hofes. Die

---

1) Busse u. Curtis, Die Hefen als Krankheitserreger. Berlin (August Hirschwald) p. 16.

2) A. a. O. p. 453.

3) a. a. O. p. 19, bezw. Franck, Untersuchungen über pathogene Hefe. Inaug.-Diss. Greifswald 1902. p. 25.

4) Sanfelice, Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVII. p. 625 resp. 631.)

5) a. a. O. p. 452, bezw. Busse, Hefen. p. 20.

6) Sternberg, Experimentelle Untersuchungen über pathogene Hefen. (Zieglers Beiträge. Bd. XXXI. Heft 1. p. 1 resp. p. 92.)

Gegenfärbung des letzteren mit Safranin, die beim frischen Ausstrichpräparat so vorzügliche Dienste leistete, gelang im Schnittpräparat nur auf Kosten des Gewebes, das sich stark überfärbte und ging bei der Differenzierung wieder verloren. Sollte es jemandem, der in diesen Dingen mehr Erfahrung hat, gelingen, die Methode entsprechend zu verbessern, so dürfte sie — vorausgesetzt, daß sich andere Hefen ebenso verhalten — noch gute Dienste leisten. Wir verwandten sonst zur Gegenfärbung des Gewebes Lithionkarmin (1/2—1 Minute) mit nachfolgender mindestens 2-stündiger Differenzierung in 1-proz. salzsaurem Alkohol.

Wir haben sodann, veranlaßt durch die so oft diskutierte Frage der Identität von Hefen und Krebseinschlüssen, noch einen anderen Weg des Färbungsverfahrens eingeschlagen und die zur Darstellung der letzteren angegebenen Verfahren, auf solche Präparate übertragen, in denen Hefen mit Sicherheit vorhanden und durch die anderen Methoden, insbesondere die Gram'sche, nachweisbar waren. Dabei ergab sich die überraschende Tatsache, daß die seiner Zeit von Russell[1]) zur Darstellung seiner Fuchsinkörperchen angegebene Doppelfärbung von Karbolfuchsin und Karboljodgrün die schönsten und kontrastreichsten Präparate lieferte, in denen die Hefen purpurn oder blauviolett erschienen, während das Gewebe sich grün färbte und die Kapseln ungefärbt blieben. Unsere Abbildung IV — Darmgeschwür beim Meerschweinchen — gibt hiervon eine Probe; nur kommen die einzelnen Formen der schwachen Vergrößerung wegen wenig zum Ausdruck.

Die vorstehende Beobachtung entspricht einer ähnlichen von Sanfelice[2]); wenn letzterer aber der Ansicht ist, daß die im Gewebe nach längerem Aufenthalt degenerierten und nicht mehr kultivierbaren Hefen eine Art von Umwandlung in Fuchsinkörperchen eingingen[3]), so können wir ihm hier in unserem Fall darin nicht beistimmen, denn es waren die sämtlichen, gut erhaltenen und nach Gram färbbaren Hefen, die diese Reaktion gaben, wovon wir uns an der Hand entsprechender, nach Gram gefärbter Schnitte überzeugen konnten; auch nahmen bei der Behandlung von Ausstrichpräparaten nach der Russellschen Methode die Hefen stets die erwähnte Rotfärbung an.

Wir halten es nebenbei nicht für überflüssig, hervorzuheben, daß

---

1) Gesättigte Lösung von Fuchsin in 2-proz. Karbolwasser: 10 Minuten. — Sorgfältiges Auswaschen in Wasser. (!) — Alcohol absol.: 1/2 Minute. — 1-proz. Lösung von Jodgrün in 2-proz. Karbolwasser: 5 Minuten. — Alcohol absol. zum Differenzieren (bis keine Farbe mehr ausgeht), Nelkenöl, Kanadabalsam. — Russell, An address of a characteristic organism of cancer. (Brit. med. Journal. Vol. II. p. 1356. Ref. Baumgarten. Bd. VI. p. 424.)

Dieser Methode hat sich bereits Buschke zur Darstellung von Hefen mit gleich gutem Erfolge bedient, wovon ich erst nach Abschluß meiner Arbeit Kenntnis erlangte (Buschke, Die Blastomykose. Bibliotheca medica. 1902. DII Heft 10. p. 6 u. 8.)

2) Sanfelice, Ueber die experimentelle Erzeugung der Russellschen Fuchsinkörperchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIII. p. 276 u. 311.)

3) Siehe außer der genannten Arbeit: Sanfelice, Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten. V. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. p. 483), sowie die neueste Arbeit des Verf.'s: Die Morphologie der Blastomyceten im Organismus in Bezug auf die Antikörper des Serums. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. p. 892.)

es uns fernliegt, aus der färberischen Uebereinstimmung einen Rückschluß auf die Wesenseinheit beider Gebilde ziehen zu wollen, Andererseits fand sich jedoch, wenigstens in unseren mit Alkohol gefärbten Präparaten, nichts, was zu Verwechselungen hätte Anlaß geben können; die Hefen traten vielmehr außerordentlich scharf hervor und unterschieden sich namentlich von roten Blutkörperchen auf das deutlichste. Die Methode ist leicht zu handhaben und daher, nach unseren Erfahrungen, allen anderen Färbungen, vielleicht mit Ausnahme der Gramschen, vorzuziehen.

Neben den Russellschen sind dann ferner noch die Plimmerschen Krebskörperchen als Hefen gedeutet worden; indessen ist Nösske, der die Plimmerschen Angaben zum Gegenstand einer genauen Nachuntersuchung gemacht hat, zu dem Ergebnis gelangt, daß es sich hierbei um Vakuolenbildung im Protoplasma mit teilweiser Ausfüllung der Hohlräume durch gerinnungsfähige Substanz handele. Ohne auf diese Frage hier eingehen zu wollen, möchten wir, unter Zugrundelegung der Angaben Nösskes[1]), einige Punkte einander gegenübersteilen, die den Unterschied zwischen den Plimmerschen Körperchen und den Hefen unserer Präparate vor Augen führen sollen:

| | Plimmersche Körperchen. | Hefen. |
|---|---|---|
| Färbung: | Alkoholfärbung schlechte Resultate. (Der oben erwähnten Erklärung Nösskes entsprechend, sind hierzu Methoden erforderlich, die das Protoplasma besonders gut konservieren.) | Gute Resultate. |
| Schnitte: | Sehr dünne Schnitte erforderlich. | Zum Erkennen der Hefen nicht erforderlich. |
| Farbe[2]): | Rot. | Blau. |
| Form[2]): | Oft unregelmäßig. | Außenlinien infolge der im Hermannschen Gemisch gut erhaltenen Kapseln regelmäßig. |
| Lagerung: | Stets intracellulär oder von Protoplasmaresten umgeben. | Frei im Gewebe. |

Ueber die Art der durch unsere Hefe hervorgerufenen

Gewebsveränderungen,

welche des näheren zu schildern wir in der vorigen Arbeit versprochen hatten, können wir uns jetzt kurz fassen, da inzwischen die sehr eingehenden Untersuchungen Sternbergs erschienen sind und wir neues Material zu diesem Kapitel beizubringen nicht in der Lage sind. Vielmehr bewegten sich die von unserer Hefe hervorgerufenen pathologischen Prozesse in den an genannter Stelle[3]) scharf umschriebenen Bahnen; und interessant ist nur der Umstand, daß ein- und derselbe Krankheitserreger je nach dem verschiedenen Orte der Einwirkung so mannigfache Krankheitsprozesse auszulösen im stande ist. Während man einerseits in manchen Organen, z. B. der Leber von Mäusen, die Hefen ohne jede Reaktion von seiten des

1) Nösske, Untersuchungen über die als Parasiten gedeuteten Zelleinschlüsse im Carcinom. (Deutsche Zeitschr. f. Chirurgie. Bd. LXIV. p. 352.)

2) Nach dem von Nösske modifizierten Plimmerschen Verfahren, mittels dessen die an zitierter Stelle abgebildeten Präparate hergestellt sind: Härtung in Hermannschem Gemisch, Färbung mit Methylenblau-Magentarot (p. 368, 369).

3) a. a. O. p. 95 u. 96.

Gewebes inmitten desselben liegen sehen kann, kommt es an anderen Stellen, z. B. den Lungen genannter Tierart, zu entzündlichen Prozessen, an wieder anderen — im Darm des Meerschweinchens (Abb. IV) — zu ausgedehnten Substanzverlusten, und schließlich in den allermeisten Fällen, scheinbar ohne besondere Auswahl, zur Bildung kleinster Granulationsgeschwülste (vergl. Abb. III, Iris von Kaninchen), wie sie nach Einwirkung anderer pathogener Hefen auch sonst schon beobachtet worden sind. Wir geben hier die entsprechende Schilderung Sternbergs wieder: „Dieses Granulutionsgewebe, das in unseren Versuchen hauptsächlich durch eine Hefe Sanfelices, außerdem durch die Bussesche Hefe erzeugt wurde, tritt stets in Form mehr oder minder scharf begrenzter Knötchen auf, die hauptsächlich aus großen epitheloiden Zellen bestehen, zwischen welchen sich Leukocyten und Plasmazellen befinden. Sehr häufig erinnern diese Herde durch ihren Aufbau und die Anordnung der sie zusammensetzenden Elemente an das Bild des Fremdkörpertuberkels.“ — Wir haben es hier offenbar mit einer Schutzmaßregel zu thun, deren sich der Organismus, soweit er es vermag, zur Unschädlichmachung der Hefen bedient, denn dieselben sind im Innern der Knötchen, wie Sternberg an der nämlichen Stelle ebenfalls sehr richtig bemerkt, meist nur vereinzelt, oft auch gar nicht mehr anzutreffen. Die für unsere Hefe charakteristischen Erkrankungen des Gehirns und Rückenmarks resultierten teils aus meningitischen Prozessen, teils aus einer Durchsetzung der Centralorgane mit solchen, oft nur mikroskopisch wahrnehmbaren Granulomen.

Ob neben den örtlichen Veränderungen auch

### ein allgemeiner schädigender Einfluß der Hefe auf den Tierkörper

statt hat, ist ebenfalls Gegenstand unserer Untersuchungen gewesen. Zu diesem Zwecke wurden zunächst Filtrate 6—8 Wochen alter Hefekulturen in Bouillon oder Traubenzuckerbierwürze Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen, ersteren beiden Tierarten in Mengen von 0,5—1,0 ccm subkutan oder intraperitoneal, letzteren Tieren 2,0—4,0 ccm intravenös eingespritzt, ohne daß eine Störung im Befinden der Tiere eintrat. Entsprechende Erfahrungen hat Sanfelice[1]) mit Filtraten seines Saccharomyces neoformans gemacht, während Wlaëff[2]) aus Kulturen pathogener Hefen Toxine hergestellt haben will. Die von ihm verwendeten Mengen des Impfstoffes (30—50 ccm für Kaninchen, 15—30 ccm für Meerschweinchen) waren aber außerordentlich hohe.

Ebensowenig sahen wir von Hefeaufschwemmung, die durch 1-stündiges Erhitzen auf 70—80° C[3]) abgetötet worden waren, eine nennenswerte Einwirkung; Mäuse gingen zwar einige Male an sehr großen Gaben zu Grunde, doch wurden solche bis zu einer Oese — für diese Tiere immerhin schon eine beträchtliche Menge — stets gut vertragen; Meerschweinchen und Kaninchen zeigten nicht ein-

1) Sanfelice, Ueber die Immunität gegen Blastomyceten. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. p. 219.)

2) Sternberg, a. a. O. p. 22.

3) Es wurden stets Ausstriche auf Bieragar zur Kontrolle angelegt; die Abtötung ist bei 70° in dicken Aufschwemmungen keine regelmäßige und sichere.

mal eine wesentliche Erhöhung der Rektaltemperatur, vor allem aber keinen Temperaturabfall, wie er nach Injektion von Bakterienproteïnen einzutreten pflegt. Versuche mit abgeschwächten Kulturen, wie sie Sanfelice[1]) durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 60° erzeugte, wurden nicht angestellt; die Ergebnisse des genannten Autors entsprechen den unserigen insofern, als bereits diese noch wachstumsfähigen Hefen durch das Erhitzen ihre Wirkung eingebüßt hatten. Sanfelice hat dann ferner festgestellt, daß weder mit den Toxinen noch mit den abgeschwächten Kulturen eine Schutzwirkung gegen spätere Infektionen mit virulenter Hefe zu erzielen sei. Wir kommen damit zur Frage der

### Immunisierung.

Was die eben genannten Verfahren betrifft, so haben wir uns darauf beschränkt, 2 Mäuse, die die Injektion 1 Oese abgetöteter Kultur gut vertragen hatten, 14 Tage später $^1/_{20000}$ Oese lebender Hefe einzuspritzen; beide starben innerhalb der üblichen Frist, nur unerheblich später als das Kontrolltier. Wir haben dagegen, von der Tatsache ausgehend, daß subkutane Impfungen von Kaninchen stets gut vertragen wurden, festzustellen versucht, ob dadurch ein Schutz gegen spätere intravenöse Impfungen gewährleistet würde. Zu diesem Zweck erhielten 2 starke Kaninchen in langen Zwischenräumen — es wurde jedesmal gewartet, bis sich die entstehenden großen Infiltrate zurückgebildet hatten — 5 Einspritzungen von $^1/_4$—4 Agarkulturen. Alsdann wurde einem der Tiere eine Agarkultur intravenös beigebracht, was allerdings ein ziemlich energischer und unvermittelter Eingriff war. Das Tier erkrankte denn auch schwer, bekam jedoch keine Rückenmarkserscheinungen, erholte sich vielmehr wieder, die anfangs aufgetretenen Knötchen in der Iris bildeten sich zurück, und als das Tier 6 Wochen nach der Impfung einer unsere Bestände dezimierenden Epidemie von Kanincheninfluenza erlag, fanden sich in den inneren Organen keine auf Hefe zurückzuführenden Veränderungen, und in zahlreichen Ausstrichpräparaten, unter anderem aus den nervösen Centralorganen, wurde nicht eine Hefezelle gefunden; es wurden dann aus den verschiedensten Organen Kulturen angelegt und nur in einem einzigen, mit Material von Rückenmark beschickten Röhrchen, trat Wachstum ein[2]).

Bei dem zweiten Tier gingen wir vorsichtiger zu Werke: es erhielt erst eine halbe, dann eine, zwei und vier Oesen intravenös, ohne daß das geringste Krankheitszeichen auftrat, während sonst eine halbe Oese, auch auf Kaninchen von gleichhohem Körpergewichte, tödlich wirkte. Als dann die Masse des Impfstoffs noch mehr gesteigert werden sollte, und dabei ein Wechsel der Pravaz-Spritze nötig wurde, ereignete es sich, daß uns das Tier an Luftembolie einging.

Nach Beendigung der subkutanen Impfungen, also zu einer Zeit, wo sich schon, wie aus der Erfolglosigkeit der späteren intravenösen hervorgeht, reichlich Schutzstoffe gebildet hatten, war dem

1) Sanfelice, Ueber die Immunität gegen Blastomyceten, a. a. O. p. 220.

2) Desselben Verfahrens hat sich Sanfelice, wie aus seiner neuesten Arbeit hervorgeht (a. a. O. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. p. 849), mit Erfolg an Hunden bedient.

Tiere aus der einen Carotis Blut entnommen und das erhaltene Serum in einer Menge von 2 ccm Mäusen subkutan, gleichzeitig mit $^1/_{400}$ Oese Kultur intraperitoneal, eingespritzt worden. Eine Schutzwirkung wurde hierbei nicht beobachtet; dagegen erfolgte bei einem Kaninchen, dem 4 ccm Serum gleichzeitig mit $^3/_4$ Oese Kultur, beides intravenös, gegeben wurden, deutlich eine Verzögerung sowohl des Eintritts der Krankheitserscheinungen, wie des schließlich doch tödlichen Ausganges, gegenüber einem etwas schwereren Kontrolltier, das nur $^1/_2$ Oese Kultur und kein Serum erhalten hatte[1]). Diese Versuche sind durch den plötzlichen Tod beider Immuntiere lückenhaft geblieben; da es sich aber hier ja nicht um die Gewinnung eines wirksamen Serums, sondern um die grundsätzliche Frage der Möglichkeit einer Immunisierung gegen Hefe handelte, und uns diese Frage auch schon durch obige Versuche in bejahendem Sinne entschieden zu sein schien, glaubten wir, zumal in Rücksicht auf die herrschende Kaninchenseuche, von weiteren Versuchen nach dieser Richtung Abstand nehmen zu dürfen.

Nicht unerwähnt bleiben soll noch, daß an dem Immunserum weder eine Agglutinin- noch eine Präcipitinwirkung, selbst nicht bei Mischung mit gleichen Teilen von Hefeaufschwemmungen resp. -filtraten beobachtet wurde.

## Tafelerklärung.

Auf beiden Tafeln sind dieselben Präparate dargestellt, auf der einen in Photographie, auf der anderen in Farben.

1) Hefezellen aus einer alten Kultur auf Bierwürzeagar. Färbung: Gram-Safranin. — Vergrößerung: Zeiss, Imm. $^1/_{12}$ Die Hefezellen haben gleichmäßig die Gram'sche, die Kapseln die Safraninfärbung angenommen.

2) Hefezellen bei frischem Ausstrich aus dem Tierkörper. Das Präparat stammt von einer in der Bauchhöhle einer Maus entstandenen Hefewucherung. Es enthält außer den Hefen zahlreiche Bakterien. Färbung: Gram-Safranin. — Vergrößerung: Zeiss. Imm. $^1/_{12}$. Der Gram-färbbare Inhalt der Hefen ist geringer als in der Kultur und zeigt eine deutliche Körnung. Der Rest des Zellleibes und die Kapsel haben sich mit Safranin intensiv rot gefärbt. Die Hefezellen, ohne jeden Gram-färbbaren Inhalt, sind wahrscheinlich abgestorben.

3) Granulationsknötchen auf der Iris eines Kaninchens. Färbung: Lithionkarmin-Gram. — Vergrößerung: Schwaches Trockensystem. Vom freien Rande ausgehend, folgt zunächst das infiltrierte Stroma der Iris, dann die retinale Pigmentschicht, mehrfach durchbrochen und unregelmäßig. Dieser schließt sich ein Granulationsgewebe an, welches zum Teil schon nekrotisch ist, daneben aber auch frischere, kernreiche und dadurch scharf hervortretende Stellen enthält. In letzteren liegen eine Anzahl nach Gram gefärbter Hefen mit ungefärbten Kapseln.

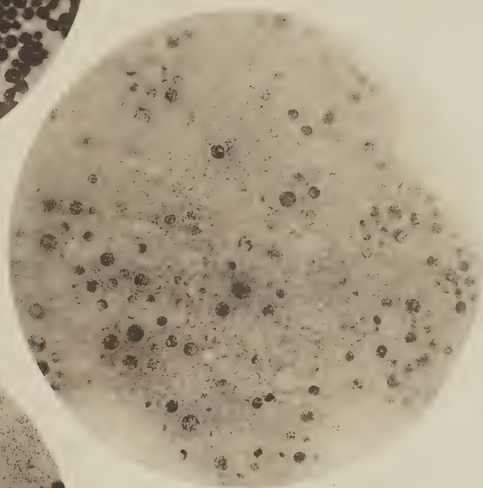
4) Ulcus im Darm des Meerschweinchens. Färbung: Karbolfuchsin — Karboljodgrün nach Russell. — Vergrößerung: Schwaches Trockensystem. Das Gewebe hat grüne, die Hefen haben eine Purpurfarbe angenommen. Die von Russell zur Färbung der „Fuchsinkörperchen" angegebene Doppelfärbung ist also für Hefepräparate mit gutem Erfolge verwendbar. Im Schnitt ist die Spitze einer Darmzotte getroffen; rechts erscheinen die Drüsen im Längs-, links im Querschnitt. Zum Teil sind sie durch massenhafte Hefeansammlung zerstört. Am rechten Rande, wo auch das Epithel aufhört, beginnt ein breiter Substanzverlust.

---

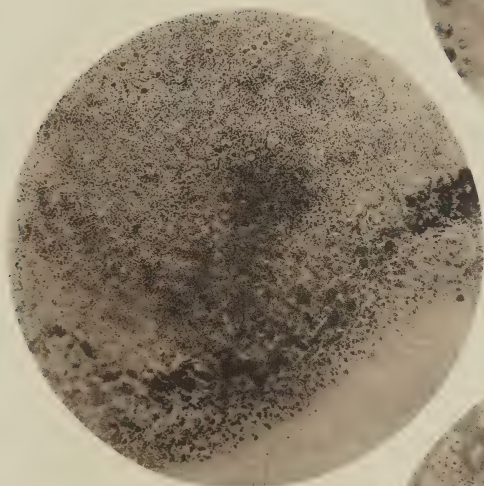
1) Eine ähnliche Beobachtung hat Wlaëff gemacht (s. Sternberg a. a. O. p. 22).



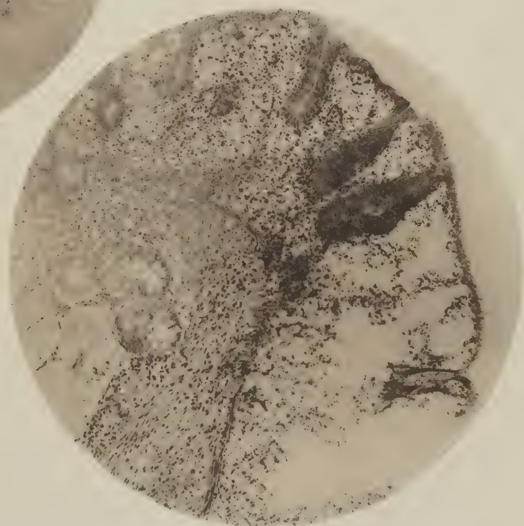
1



2



3



4

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

E. Cohn, weitere Untersuchungen über die Kleinsche tierpathogene Hefe.



Fig. 1.

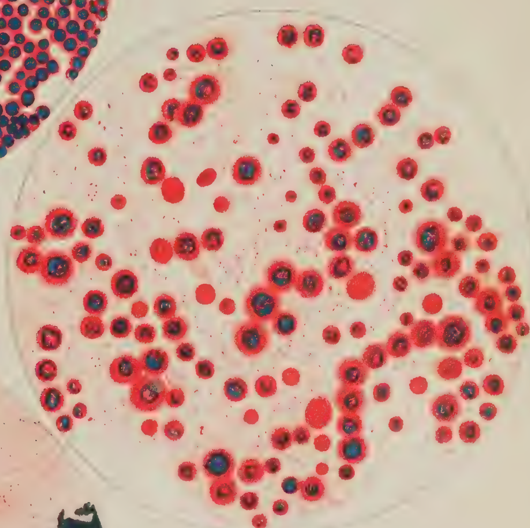


Fig. 2.

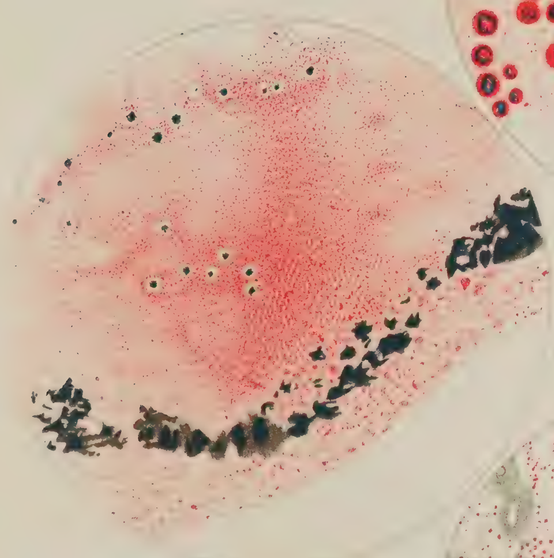


Fig. 3.

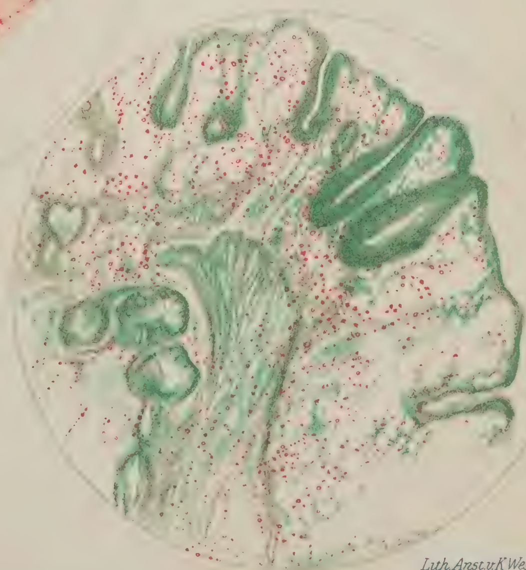


Fig. 4.

Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

# Die bakterizide Eigenschaft des Knochenmarks und die Aetiologie der Osteomyelitis.

[Aus dem chemischen Laboratorium des Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.]

Vorläufige Mitteilung.

Von **A. Hencke.**

Der Hauptzweck meiner Untersuchungen, die ich auf Antrag und unter Leitung von Dr. N. O. Sieber-Schumoff angestellt habe, war festzustellen, ob das Knochenmark überhaupt bakterizide Eigenschaften besitzt und, falls ja, wie stark dieselben sind; ferner, in welchem Verhältnis diese bakteriziden Eigenschaften des Knochenmarks zu denjenigen der inneren Organe und des Blutes stehen? — Um diese Fragen zu lösen, führte ich in den Organismus der Tiere verschiedene Reinkulturen ein, hauptsächlich solche des Staphylococcus aureus, und verfolgte die Reihenfolge der früher oder später stattfindenden Vernichtung der Mikroben, wie sie in den verschiedenen Organen vor sich ging.

Die Infektion bewerkstelligte ich auf zweierlei Art: 1) ins Blut und 2) direkt ins Knochenmark, indem der Trochanter major femoris von der Nadel einer Spritze durchstochen wurde. Diese Art, die Infektion ins Knochenmark einzuführen, ist, meines Wissens noch von niemandem angewandt worden; sie besitzt den Vorteil, bei verhältnismäßig kleinem Trauma die Infektion durch eine dünne Nadel in jede beliebige Stelle des Knochenmarks einführen zu können. Danach wurden die Tiere am 2., 3. u. s. w. Tage getötet. Bei der Sektion wurden alle makroskopischen Befunde notiert, ferner Impfungen in Bouillon aus den inneren Organen und vom Knochenmark aller Röhrenknochen (und in einzelnen Fällen aus den Rippen) gemacht, und zwar doppelt: 1) in ein Reagenzgläschen mittelst der Platinöse, und 2), um mehr Gewebssubstanzen im Nährboden zu erhalten, vermittelst eines scharfen schmalen Löffels nach Volkmann. Infolgedessen konnte man im zweiten Probiergläschen sogar dann Mikroben konstatieren, wenn sie in den zu untersuchenden Organen in sehr geringem Maße zu finden und ins erste Probiergläschen eventuell nicht hineingekommen waren. Meine Untersuchungen haben mich davon überzeugt, daß das Knochenmark starke bakterizide Eigenschaften besitzt (wodurch ich mit den Herren Tarasewitsch, Martinelli, Wassermann u. a. übereinstimme) und besser und schneller als die inneren Organe die Infektion bekämpft. Dieses geschieht sogar bei fürs Knochenmark ungünstigen Verhältnissen — jugendliches Alter der Experimenttiere, das ja am meisten die Knochenerkrankungen begünstigt, und eine Infektion, die am häufigsten diese Erkrankungen hervorruft (Staphylococcus aureus). Hier sehe ich mich veranlaßt, hinzuzufügen, daß ich niemals eine Osteomyelitis konstatieren konnte, ganz gleich, ob ich die Infektion ins Blut oder direkt ins Knochenmark applizierte (beide Einführungsmethoden gaben stets dasselbe negative Resultat). In solchen Fällen, in denen Eiterung des Knochenmarks von mir beobachtet wurde, war sie nicht primär, sondern sekundär als Fortsetzung (per continuitatum) des Eiterungsprozesses des Gelenkes. Die Konsta-

tierung hochgradiger bakterizider Eigenschaften des Knochenmarks stellte für mich zwei Fragen in den Vordergrund: 1) wenn die bakteriziden Eigenschaften des Knochenmarks wirklich so groß sind, könnte man sie dann nicht irgendwie verwerten? — Zur Beantwortung dieser Frage sind augenblicklich von mir an verschiedenen Tieren (Kaninchen, Hunden, Schafen) Versuche angestellt; die Resultate dieser Untersuchungen werde ich seiner Zeit mitteilen. 2) Wenn der Staphylococcus aureus nicht imstande ist, eine Osteomyelitis hervorzurufen, wodurch wird dann dieselbe bedingt? — Diese Frage will ich jetzt näher erörtern.

Die Aetiologie der Osteomyelitis beschäftigt die Chirurgen schon seit einem Vierteljahrhundert. Anfangs war die Aufmerksamkeit ausschließlich auf den Staphylococcus aureus gerichtet und er galt fast für den spezifischen Mikroben der Osteomyelitis. Darauf fand man im osteomyelitischen Eiter auch andere Mikroben: Staphylococcus albus, cereus, citreus, Streptococcus, Diplococcus Weichselbaum, Bacillus Eberth und Bacillus coli communis; außerdem hat man das Augenmerk auf die anaëroben Mikroben gerichtet. Die oben erwähnten Mikroben fand man im osteomyelitischen Eiter, entweder als Reinkulturen oder in Gemeinschaft mit dem Staphylococcus aureus und in letzter Zeit hat man die Aufmerksamkeit auf die Mischinfektionen speziell gerichtet. All die zahlreichen Untersuchungen zeigen, daß die soeben erwähnten Mikroben jedenfalls eine geringere Rolle in der Aetiologie der Osteomyelitis spielen, als der Staphylococcus aureus, dem die Hauptrolle zuzuschreiben ist.

Die Experimente mit Einführung des Staphylococcus aureus in den tierischen Organismus führten zu widersprechenden Resultaten. Die Autoren Rode, Jaboulay, Colzi, Lannelongue, Achard riefen bei den Tieren Osteomyelitis hervor, indem sie ins Blut Reinkulturen des Staphylococcus aureus einführten, ohne dabei irgend ein Trauma an den Knochen zu verüben; die anderen, wie Becker, Rosenbach, Krause, Uhlmann, konnten nur dann eine Osteomyelitis bei den Tieren erhalten, wenn sie vorher Knochenbrüche oder Knochenquetschungen hervorgerufen hatten; die Autoren Orloff und Essauloff erhielten sogar bei erzeugten Knochenbrüchen keine Osteomyelitis.

Durch meine Untersuchungen kam ich zu der Schlußfolgerung, daß die erwähnten, sich widersprechenden Resultate der verschiedenen Autoren nur von dem Unterschied in den Eigenschaften der eingeführten Infektion abhängen können. Essauloff infizierte seine Kaninchen mit Kulturen des Staphylococcus aureus, die er nicht aus osteomyelitischem Eiter, sondern aus Phlegmonen gezüchtet hatte. Die deutsche Schule arbeitet mit festem Nährboden nach der Methode von Koch; die französische Schule experimentierte mehr mit flüssigem Nährboden nach der Methode von Pasteur. Unwillkürlich kommt man auf die Vermutung, daß sich in den osteomyelitischen Herden außer dem Staphylococcus aureus noch ein bis jetzt unbekannter Mikrobe befinden könnte, dem die Hauptrolle in der Aetiologie der Osteomyelitis zuzuschreiben wäre. In den Untersuchungen von Essauloff mußte der vermutete Mikrobe überhaupt abwesend sein, da er mit dem Eiter von Phlegmonen, nicht aber von Osteomyelitiden gearbeitet hat. In den Experimenten von Becker, Rosenbach, Krause, Uhlmann konnte, da sie festen Nährboden verwandt haben, eine, wenn auch nicht vollständige, so doch teilweise Isolierung dieser unbekannten Mikroben

stattfinden. Beim Experimentieren mit flüssigem Nährboden, wie es Rode, Jaboulay, Colzi, Lannelongue, Achard getan haben, konnte der betreffende Mikrobe in toto in die Bouillonkulturen übergegangen sein.

Meine vorausgehenden Untersuchungen, welche mich davon überzeugt haben, daß Injektionen des Staphylococcus aureus keine Osteomyelitis bei den Tieren hervorrufen, veranlaßten mich, den vermuteten Mikroben zu suchen, und es ist mir auch gelungen, ihn zu finden. Dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. A. Kadian hatte ich die Möglichkeit, 4 Fälle von Osteomyelitis infectiosa spontanea, in denen keine Kommunikation mit der äußeren Luft vorhanden war, und einen Fall, in dem diese Kommunikation da war, zu beobachten und das Material zu meiner Untersuchung zu bekommen. Ich legte nicht viel Gewicht auf das Untersuchen des osteomyelitischen Eiters, wo naturgemäß nur der Staphylococcus aureus sich vorfinden konnte. Meine Hauptaufmerksamkeit richtete sich auf die Untersuchung der während der Operationen den osteomyelitischen Herden entnommenen nekrotisierten Knochen und der Ausschabungen des Knochenmarkes. Dieses Material übertrug ich in Bouillon und machte aus diesen Bouillonkulturen sofort unmittelbar Plattenausgüsse, bei welchem Verfahren jede Verunreinigung ausgeschlossen ist. Dabei konnte ich in allen von mir untersuchten Fällen von Osteomyelitis die Anwesenheit ein und desselben Stäbchens konstatieren, das ich nun auch in Reinkultur gezüchtet habe. Ich muß aber gestehen, daß mir dieses Auffinden sehr viel Mühe gekostet hat. In den Mischkulturen mit Staphylococcus, in denen das Stäbchen selten seine normale Länge erreicht, und da es außerdem, wie der Staphylococcus in traubenförmiger Anordnung vorkommt, ist es schwer, es von dem Staphylococcus aureus zu unterscheiden. Auf Gelatineplatten tritt, falls sich das Stäbchen in Gemeinschaft mit dem Staphylococcus befindet, die Verflüssigung der Gelatine früher ein, und infolgedessen kann das Stäbchen nicht zur Ausbildung der charakteristischen Kolonieen gelangen. Auf Agar-Agarplatten sind die tief (d. h. zwischen Glas und Agar-Agar) gelegenen Kolonieen des Stäbchens und des Staphylococcus aureus einander so ähnlich, daß ich auch jetzt nicht unternehmen will, sie immer sicher voneinander zu unterscheiden; sowohl die einen als auch die anderen sind von gleich grauer Färbung und ähnlicher Struktur. Dagegen kann man die oberflächlich gelegenen Kolonieen von denen des Staphylococcus aureus leichter unterscheiden. Leider erinnern die Klatschpräparate wegen der Kürze des Stäbchens und seiner traubenförmigen Anordnung so sehr an die Klatschpräparate des Staphylococcus, daß ich trotz hundertmaliger Untersuchung das gesehene Stäbchen auch lange für den Staphylococcus gehalten habe.

Endlich half mir ein Fall von Osteomyelitis, der schwersten klinischen Verlauf und die größten Veränderungen im Knochen während der Operation aufwies, aus der Klemme. In diesem Falle war im Knochenmark und im nekrotisierten Knochen nur das Stäbchen zu finden, also war dies eine natürliche Reinkultur desselben; hier war es nicht schwer, sich zu orientieren. Nachdem ich, dank diesem Falle, die Eigenschaften des Stäbchens näher kennen gelernt hatte, gelang es mir auch, das Stäbchen aus den anderen Fällen, wo es in Gemeinschaft mit dem Staphylo-

coccus vorhanden war, und wo es mir anfangs nicht gelang, es vom Staphylococcus zu trennen und zu isolieren und es so in Reinkultur zu erhalten. Zum Glück hatte ich alle Kulturen und Plattenausgüsse von allen den Fällen, die ich untersucht hatte, aufbewahrt.

Die Morphologie dieses Stäbchens ist in aller Kürze folgende: Es ist ein kleines kurzes Stäbchen, 0,8—2 $\mu$ groß, die Länge desselben beträgt das Doppelte der Breite; die kürzeren erinnern sehr an Kokken. Es hat die Neigung, Traubenstruktur anzunehmen. Es ist beweglich, entfärbt sich nach Gram. Bei Anwendung von Gentianviolett und der Ziehlschen Lösung färbt es sich gleichmäßig gut; Methylenblau gibt eine bipolare Färbung. Bouillon macht es gleichmäßig trüb und bildet ein Häutchen auf der Oberfläche; falls die Kulturen lange aufbewahrt werden, bildet sich ein Satz am Boden des Probiergläscheus. Auf Gelatineplatten sind es runde, weißfarbige, trockene, glänzende Kolonieen. Die Kolonie besteht aus drei konzentrischen Kreisen: Der zentrale erhebt sich in Form eines Stecknadelköpfchens, der mittlere Kreis liegt etwas tiefer und ist aus regelrecht radiär verlaufenden, erhabenen Streifen gebildet; der periphere Kreis ist leicht erhaben. Dabei beobachtet man nicht die geringste Verflüssigung der Gelatine. Auf Agar-Agarplatten sind die Kolonieen von hellgrauer Färbung mit scharfem Rande und besitzen ebenfalls konzentrische Struktur. Die Kolonieen erreichen 1 cm Durchmesser. Gelatinestrichkulturen zeigen weiße Färbung und Agar-Agarstrichkulturen hellgraue Färbung, sind 0,5 cm breit und bilden ein trockenes, glänzendes, flaches Band, das zu beiden Seiten in ganzer Länge von einer Vertiefung umrahmt wird, die wiederum von einem scharfen, erhabenen Rande begrenzt wird. Auf allen gebräuchlichen, außer auf Agarglycerinnährboden wächst das Stäbchen gut. Es ist ein fakultativer Anaërob.

Es bildet Gase, die nicht besonders schlechtriechend sind. Die Milch wird nicht geronnen und bleibt farblos. Auf Kartoffelkulturen bildet es einen festen, erhabenen, hellgrauen Ueberzug mit steil abfallendem Rande. Auf Blutserum gibt es einen zarten, hellgrauen, kaum sichtbaren Ueberzug, von scharfem Rande umgeben und verflüssigt das Blutserum nicht. Also das Stäbchen ist, dank seinen Eigenschaften, keinem bis jetzt bekannten Mikroorganismus gleich. Es ist mir auch bis jetzt nicht gelungen, das Stäbchen mit irgend einem schon bekannten zu identifizieren, deshalb muß es auch als Mikroorganismus sui generis anerkannt werden.

Die von mir an Kaninchen angestellten Untersuchungen ergaben, daß die Injektionen von Reinkulturen dieser Stäbchen ins Blut ohne irgend welches Trauma stets typische Osteomyelitiden hervorriefen; bei den Tieren fand man Knochendefekte an den Juxt-Epiphysenstellen, die mit Eiter angefüllt waren und mit dem Knochenmarkkanal communizierten. Tödliche Dosis bei intravenöser Applikation für Kaninchen ist 1—1,5 ccm der 24 Stunden alten Kultur. Augenblicklich bin ich mit der Lösung der Pathogenesis des von mir in den osteomyelitischen Herden gefundenen Stäbchens sowie die Rolle des Staphylococus, wenn möglich, dabei aufzuklären beschäftigt, wozu ich zahlreiche Experimente angestellt habe, über deren Resultat ich seinerzeit berichten werde.

Das Resumé meiner Untersuchung ist:

1) Das Knochenmark besitzt sehr starke bakterizide Eigenschaften; es befreit sich von der dem Organismus

einverleibten Infektion schneller und besser als die inneren Organe.

2) Staphylococcus aureus als Reinkultur in den tierischen Organismus eingeführt, sei es ins Blut, sei es direkt in das Knochenmark, erzeugt keine Osteomyelitis infectiosa spontanea.

3) In den vier von mir untersuchten Fällen von Osteomyelitis spontanea, wo keine Kommunikation mit der äußeren Luft vorhanden war, und in dem einen Falle, wo solche Kommunikation stattfand, habe ich ein und dasselbe Stäbchen, das bis jetzt wahrscheinlich noch unbekannt gewesen ist, gefunden und in Reinkultur isoliert.

4) Reinkulturen dieses Stäbchens sind imstande, bei intravenöser Applikation ohne irgend welches Trauma für Osteomyelitis charakteristische und stets typische Knochenläsionen bei Kaninchen zu erzeugen.

Ausführliche Beschreibung aller Versuche wird später erfolgen.

St. Petersburg, 5. Februar 1903.

---



# Ueber die Möglichkeit, Meerschweinchen gegen Tuberkulose zu immunisieren.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität.]

Vorläufige Mitteilung.

Von **E. Levy**, Straßburg.

Der Zweck dieser Mitteilung besteht darin, über einige Versuche kurz zu berichten, welche sich auf die Immunisierung von Meerschweinchen gegen Tuberkulose beziehen. Trotz ihrer vorläufig geringen Ausdehnung haben diese Experimente meines Erachtens bereits zu greifbaren Resultaten geführt. Dieselben erwecken die Hoffnung, durch Weiterverfolgung des eingeschlagenen Weges zur Darstellung eines vielleicht brauchbaren Tuberkulosevaccins zu gelangen. Die Wichtigkeit dieses letzteren Momentes dürfte es rechtfertigen, wenn ich bereits jetzt mit den bisher gewonnenen Ergebnissen an die Oeffentlichkeit trete, um so mehr als durch die hochbedeutenden Versuche von v. Behring, welche durch Thomassen bestätigt wurden, der Gedanke an eine Schutzimpfung gegen Tuberkulose in jüngster Zeit eine neue Stärkung erhalten hat.

Seit 1888 bin ich mit der Frage der Immunisierung von Versuchstieren gegen Tuberkulose beschäftigt. Wegen der geringen Mittel, die mir zur Verfügung standen, sah ich mich gezwungen, einzig und allein mit Meerschweinchen zu arbeiten. In langen, mühseligen Versuchsreihen wurden die verschiedenartigsten Bedingungen herangezogen, um eine Tuberkulosevaccination zu erreichen. Bis 1902 hatte ich wohl interessante und wichtige Befunde zu verzeichnen, über die ich später zugleich mit eingehender Berücksichtigung der Literatur berichten werde; allein eine richtige Schutzimpfung wollte zunächst nicht glücken. Wiederholt konnte längeres Ueberleben (wochen-, selbst monatelang) der behandel-

ten Tiere gegenüber den Kontrolltieren konstatiert werden; es darf aber hierauf nach meinen zahlreichen Erfahrungen über den Verlauf der experimentellen Meerschweinchentuberkulose kein ausschlaggebendes Gewicht gelegt werden. Da lernte ich im Laufe meiner Untersuchungen im Glycerin ein Mittel kennen, welches die Tuberkelbacillen in energischer Weise beeinflußt. Eine 80-proz. sterilisierte Glycerinlösung macht virulente Tuberkelbacillen bei 37° in 48 Stunden unschädlich. Von diesem Zeitpunkt an gerechnet, vermögen die glycerinierten Tuberkelbacillen noch Verdickungen, Abscesse, zu erzeugen, die jedoch schließlich wieder vollkommen ausheilen und zwar um so rascher, je länger die Einwirkung des Glycerins gedauert hat[1]). Diese Verhältnisse wurden systematisch Tag um Tag studiert, zuletzt an Tuberkelbacillen, die 30 Tage unter dem Einflusse des Glycerins gestanden hatten. 24 Stunden in Glycerin gelagerte Tuberkelbacillen erzeugten im Tierexperiment genau dieselben Veränderungen wie frisch von der Kultur entnommene. Bei meinem ersten Versuch ging sogar ein Meerschweinchen, welches mit 1-tägigen (d. h. 1 Tag mit Glycerin behandelten) Tuberkelbacillen infiziert war, früher ein als das Tier, welches den Tag zuvor dieselben Bacillen erhalten hatte, gerade ehe sie in das Glycerin gelegt wurden. Ich benutzte bei meinen Infektionsversuchen eine Anordnung, die sich mir im Laufe der Zeit als sehr zweckmäßig erwiesen hatte, um beim Meerschweinchen eine Tuberkulose zu erzielen, die wenigstens einigermaßen mit der menschlichen Lungentuberkulose in Parallele gesetzt werden kann. Ich führte die Tuberkelbacillen direkt in die Achselhöhle ein, in die Nähe der dort befindlichen Lymphdrüsen. Es entwickelt sich zunächst eine lokale Induration, die bald zum Absceß wird, es folgt eine Schwellung der Lymphdrüsen der Achselhöhle, des Halses und des Unterkiefers, die Tiere zeigen nach verschieden langer Zeit starke Atemnot und gehen schließlich unter großer Abmagerung zu Grunde. Die Autopsie ergibt hochgradige Tuberkulose beider Lungen, doppelseitige seröse Pleuritis, Tuberkulose der Leber, der Milz und einen Erguß in die Peritonealhöhle.

Nach allen diesen Vorversuchen schritt ich nunmehr zur eigentlichen Immunisierung. Ich spritzte einem alten, ausgewachsenen Meerschweinchen subkutan eine 6-tägige leicht opalescierende Tuberkelbacillenemulsion (6 Tage in Glycerin) und einem anderen Meerschweinchen dieselbe Menge ($^1/_4$—$^1/_2$ ccm) intraperitoneal ein. Nachdem die Tiere sich wieder vollkommen erholt hatten (Kontrolle des Körpergewichts etc.), erhielten sie 5-tägige Bacillen, dann 4-tägige, 3-tägige, 2-tägige. Schließlich bekamen sie in die rechte Achselhöhle zusammen mit 2 frischen, gleichfalls ausgewachsenen Meerschweinchen 1-tägige (virulente) Bacillen eingespritzt. Es bildete sich gleich in den nächsten Tagen bei den vaccinierten Tieren ein großer Knoten, dann ein Absceß aus, bei den beiden Kontrolltieren dagegen erst einige Tage später. Im Verlaufe von genau 4 Wochen heilten die Geschwüre der vorbehandelten Meerschweinchen jedoch glatt, die Achsellymphdrüsen blieben unversehrt. Bei den beiden Kontrollen ging der Prozeß unaufhaltsam vorwärts, sie zeigten das oben beschriebene charakteristische Bild und das eine starb nach 13 Wochen. Bei der Autopsie

1) Ob diese Veränderungen der Bacillen sich dauernd fixieren lassen, darüber später.

konstatierte ich hochgradige Tuberkulose der Lungen, der Leber, der Milz, seröse Ergüsse in Pleura und Peritoneum. Das andere Kontrolltier und die beiden vaccinierten Tiere wurden nunmehr getötet. Das Kontrolltier wies eine starke Tuberkulose beider Lungen, der Milz und beginnende Veränderungen in der Leber auf. Bei den beiden vaccinierten Meerschweinchen war trotz sorgfältigster Durchforschung nicht die geringste Spur von Tuberkulose zu entdecken. Ein Zufall scheint hier wohl ausgeschlossen, Dies Experiment beweist, daß es möglich ist, gegen experimentelle Tuberkulose sonst so hochempfängliche Tiere zu immunisieren. Ob es hierzu nötig ist, eine so intensive Vorbehandlung eintreten zu lassen, wie eben beschrieben, das müssen weitere Versuche lehren. Ferner bin ich dabei, zu prüfen, ob auch gegen ganz hochvirulente Tuberkelbacillen sich meine Immunisierungsmethode heranziehen läßt. Und schließlich beschäftige ich mich damit, ob bereits bestehende tuberkulöse Veränderungen durch eine nachträgliche rasche Immunisierung sich noch günstig beeinflussen lassen. Da das Arbeiten mit experimenteller Tuberkulose naturgemäß nur langsam vorschreiten kann, so wird es noch einige Zeit dauern, bis alle die hier in Betracht kommenden Fragen ihre Beantwortung gefunden haben.

Der benützte Tuberkelbacillenstamm war von mir aus einem Falle von menschlicher Tuberkulose gezüchtet worden.

Straßburg, 18. März 1903.

---



# Ueber den Gehalt der einzelnen Eiweissfraktionen des Serums (Globuline, Euglobuline, Albumine etc.) an Choleraimmunkörpern.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. Direktor: Prof. Dr. R. Pfeiffer.]

Von Dr. **Alfred Wolff.**

Wie leicht begreiflich erscheint, hat die Frage nach der Natur der die Immunität gegen Bakterien bedingenden Stoffe die Forscher so lange schon beschäftigt, als die Anwesenheit dieser Substanzen aus ihren Wirkungen bekannt geworden war. Bei Emmerich und Tsuboi[1]) findet sich die auffällige Angabe, daß bei der Immunisierung die Globuline abnehmen und die immunisierende Kraft an die Albumine des Serums geknüpft sei. Dieser Schluß gründet sich auf die Beobachtung, daß beim rotlaufimmunisierten Tier die durch Kohlensäure fällbaren Globuline (wie wir heute wissen, stellen diese nur einen Teil der Globuline vor) abnehmen; mit neueren Methoden angestellte Versuche ergaben, daß die Menge der Globuline des Serums beim Immunisierungsvorgang sich nicht wesentlich ändert; wie wir noch sehen werden, steht heute die große

1) Emmerich und Tsuboi, Verhandlungen des XI. Kongresses für innere Medizin. Leipzig 1892. — Emmerich u. Steinmetz, Löw, Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. XII. 1892. No. 11/12.

Mehrzahl der Autoren auf dem diametral entgegengesetzten Standpunkt, daß das immunisierende Prinzip gerade an die Globuline geknüpft sei.

Die ersten grundlegenden Untersuchungen über die Natur der bakteriziden Immunkörper sind wohl die von Pfeiffer und Proskauer (Centralbl. f. Bakt. 1896. p. 191) angestellten. Wir kommen später noch auf diese Arbeit ausführlich zu sprechen und wollen hier nur vorausnehmen, daß die Autoren eine Beziehung der Immunkörper zu den Eiweißstoffen des Serums nicht feststellen konnten, sowohl bei Benutzung der Aussalzungsmethode (Magnesiumsulfat), als auch bei Verdauungsversuchen; letztere sind allerdings vielleicht nicht ganz eindeutig; wichtig dagegen erscheint die Mitteilung, daß Pfeiffer u. Proskauer durch Kombination der Dialyse mit langdauernder Einwirkung absoluten Alkohols aus dem gehärteten Niederschlag eine wasserlösliche Substanz zu extrahieren vermochten, die Eiweiß nur in Spuren, dagegen von Choleraimmunkörpern sehr große Mengen enthielt.

Die meisten späteren Autoren gehen über diese grundlegenden Feststellungen meist ganz hinweg, teils führen sie die Resultate auf eine veraltete Versuchsanordnung (in chemischer Beziehung) zurück; die neueren Untersucher kommen fast alle zu dem Schlusse, daß die im Serum enthaltenen Immunkörper an die Globuline gebunden seien und wiederholen diese Behauptung immer wieder, obwohl die Pfeiffer-Proskauersche Arbeit bisher in keiner Weise als widerlegt gelten kann. Ganz kürzlich ging Pick auf dieser Bahn noch einen bedeutenden Schritt weiter, indem er Befunde publizierte, welche die Immunkörper an eine bestimmte Ausfällungsfraktion, z. B. das Euglobulin des Serums geknüpft erscheinen ließen.

Bisher ist noch von keiner Weise Widerspruch gegen die Pickschen Untersuchungen laut geworden, die auf ein großes Material gestützt, so gesichert erscheinen und durch eine Reihe von vorhergehenden Arbeiten so vorbereiteten Boden antrafen, daß sie fast suggestiv wirkten.

Herr Prof. R. Pfeiffer wollte sich gern ein Urteil darüber bilden, wie die Tatsachen bei Anwendung der von Pick im Gegensatz zum Magnesiumsulfat vielgerühmten Ammoniumsulfataussalzungsmethode sich darstellen und betraute mich mit dieser Untersuchung, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank ausspreche.

Eine Nachprüfung der Pickschen Angaben ist schon, ganz abgesehen von dem großen theoretischen Interesse für die Immunitätslehre, von Wichtigkeit, weil im Falle der Bestätigung dieser Untersuchungen diesen eine große praktische Bedeutung zukommen müßte, da es auf diese Weise möglich sein würde, sehr hochwertige Sera herzustellen. Eine große Reihe von Schädigungen, die im Anfange der Diphtherieheilserum-Aera beim Menschen beobachtet wurden, waren darauf zurückzuführen, daß die ursprünglich angewandten Sera nicht sehr hochwertig waren, und daß von ihnen deshalb zur Erreichung eines Heileffektes ziemlich große Mengen injiziert werden mußten. Diese Serummengen an sich wirkten schädlich, da sie als körperfremdes Eiweiß zu unangenehmen Reaktionen des Organismus Veranlassung gaben. Durch Gewinnung sehr hochwertiger Sera hat man die zu injizierende Menge jetzt so klein gestalten können, daß schädliche Nebenwirkungen kaum mehr beobachtet werden. Wäre es jedoch richtig, daß die ganze Menge der Immunkörper resp. Antitoxine, beispielsweise in dem Euglobulinniederschlage, vorhanden wäre, so würde man damit ein Mittel besitzen, die zu injizierende Menge

körperfremden Eiweißes auf ca. $^1/_4$—$^1/_3$ der früher notwendigen Menge herabzumindern.

Bei der Nachprüfung der Pickschen Versuche übten wir eine gewisse Beschränkung, um dadurch um so exakter arbeiten zu können. Wie aus den beigefügten Protokollen zu ersehen ist, wurde jeder der Hauptversuche mindestens 3mal wiederholt; so begnügten wir uns, die Angaben Picks über die Choleraimmunkörper zu prüfen; es geschah dies auch wesentlich aus dem Grunde, weil mit diesen Stoffen (und mit den Typhusimmunkörpern, die sich fast in allem den Choleraimmunkörpern analog verhalten) ein absolut sicheres quantitatives Arbeiten möglich ist (unter Einhaltung der bestehenden technischen Vorschriften), wie die zahlreichen Arbeiten R. Pfeiffers und seiner Schule ergeben haben, und wie jeder in der Lage ist, nachzuprüfen, der ein Choleraimmunserum, resp. Typhusimmunserum titriert. Es gibt in der gesamten Immunitätslehre wohl nur wenige Vorgänge, die sich mit einer solchen zahlenmäßigen Exaktheit bearbeiten lassen, und dem subjektiven Ermessen nur so wenig Spielraum gewähren, abgesehen von der Diphtherieantitoxinbestimmung nach Ehrlich. Es wird wohl keiner weiteren Erklärung bedürfen, daß die Richtigkeit der wichtigen Angaben Picks nur mit Methoden geprüft werden konnte, die einen zahlenmäßigen Aufschluß über den Verbleib der Antikörper ergeben, da sonst bei den sehr verwickelten Verhältnissen ein Eindringen in den Mechanismus des Vorganges völlig ausgeschlossen erscheinen muß. Falsche Schlußfolgerungen sind unvermeidlich, wenn man bei derartigen komplizierten Versuchen sich auf Gebiete begibt, bei denen noch nicht einmal die einfacheren Verhältnisse genügend klargestellt sind.

Derselbe Grund ließ uns die Bestimmuug der Choleraagglutinine aus unseren Versuchen ausschalten. Die Bewertung der Agglutination ist zur Zeit wieder eine schwankende geworden; wie hoch der diagnostische Wert dieser Methodik anzuschlagen ist, wird ja wohl mit der Zeit einmal einheitliche Beurteilung finden. Jedenfalls ist es bei der Titrierung der agglutinierenden Substanzen unmöglich, den Grenzwert zahlenmäßig exakt zu bestimmen; da es uns bei diesen Untersuchungen darauf ankommen mußte, einen quantitativen Aufschluß über den Verbleib der Antikörper zu erhalten, verzichteten wir auf die Benutzung einer Methode, die zu völlig exakten Resultaten unmöglich führen kann.

Die Technik der Cholerauntersuchung findet sich in den verschiedenen Arbeiten R. Pfeiffers und seiner Schule zerstreut, wir wollen dieselbe jedoch kurz noch einmal rekapitulieren, da einzelne Autoren, wie z. B. Pick, wohl angeben, die Pfeiffersche Technik benutzt zu haben, dies in der Tat aber nicht der Fall ist.

### Kultur: Dosierung.

Man braucht zu derartigen Untersuchungen eine virulente Cholerakultur, deren Virulenz durch wöchentliche Tierpassagen (Peritonealinjektion) auf gleicher Höhe zu halten ist. Die von Pfeiffer angegebenen Titerwerte beziehen sich immer auf eine Kultur von $^1/_{10}$ Oese (Oese = 2 mg) Virulenz = 2 mg Bakteriensubstanz. Es empfiehlt sich, die Oese Cholerakultur in dem zu prüfenden (verdünnten) Serum selbst aufzuschwemmen. Es wird stets eine ganze Oese dieser Kultur, also die zehnfache Dosis letalis minima den Versuchstieren in 1 ccm der zu prüfenden Serumverdünnung injiziert.

### Tiere: Gewicht.

Zu den Choleraversuchen werden Meerschweinchen benutzt, deren Gewicht nur wenig um 200 g schwanken soll; irgend wie erhebliche Gewichtsunterschiede bewirken Versuchsfehler.

### Injektion.

Die Injektion wird mit stumpfer Kanüle in den Peritonealraum ausgeführt, nachdem durch einen Scherenschlag die Haut durchtrennt worden ist. Man überzeugt sich durch Entnahme eines Tropfens Peritonealexsudats mittels einer Kapillare direkt nach der Injektion, ob die Choleravibrionen auch in den Peritonealraum gelangt sind.

### Art der Beobachtung.

Nach ca. $^1/_2$, 1, 3, 5 Stunden entnimmt man wieder mittels einer Kapillare einen Tropfen Exsudats und beobachtet im hängenden Tropfen den Ablauf des Prozesses: Granulabildung resp. das Verhältnis der Granula zu den unveränderten Vibrionen.

### Immunitätseinheit.

Unter Immunitätseinheit versteht man die Menge Serums, welche unter Auflösung der Vibrionen (Granulabildung) ein Meerschweinchen von 200 g gegen die peritoneale Infektion mit 1 Oese Cholera von $^1/_{10}$ Oese Virulenz schützt. So sind z. B. in einem ccm Serum 5000 solche Einheiten enthalten, wenn 1 ccm des 5000mal verdünnten Serums die entsprechende Schutzkraft besitzt.

### Virulenz.

Eine gleichbleibende Virulenz der Cholerakultur ist nur dann zu erhalten, wenn man aufs strikteste die folgenden Bedingungen innehält: Man verimpfe nur Kulturen auf die Versuchstiere, welche höchstens 12—20 Stunden vorher aus dem Tierkörper auf stark alkalischen Agar übertragen worden sind. Stehen bei der Versuchsreihe nicht genügend Tiere zur Verfügung, um immer direkt aus dem Tier-Peritoneum Kulturen anzulegen, so beimpfe man das Agarröhrchen mit einem Tropfen des Peritonealexsudats eines Passagetieres, welches man in einer Glaskapillare möglichst luftfrei im Dunkeln aufbewahrt hat. Die Bakterien erhalten im Exsudat ihre Virulenz für mindestens eine Woche. Die Virulenz der verwendeten Cholerakultur muß bei jeder Versuchsreihe wieder geprüft werden, da die Befunde nur dann verwertbar und mit den früheren vergleichbar sind, wenn die Virulenz unverändert geblieben ist.

### Benutzte Kultur.

Die von uns zu diesen Versuchen verwendete Cholerakultur war die von Pfeiffer schon wiederholt beschriebene „ostpreußische“ Cholera, deren Virulenz durch fortgesetzte Tierpassagen auf $^1/_{10}$ Oese erhalten worden war. ($^1/_{10}$ Oese peritoneal injiziert, tötet Meerschweinchen von 200 g in 20—24 Stunden.) Sie zeigt zur Zeit im Peritonealexsudat nur sehr schwache Beweglichkeit, doch läßt sich dieselbe sehr erhöhen, wenn man eine Reihe von Generationen in Peptonwasser züchtet, und durch Entnahme des Ueberimpfungsmaterials von der Oberfläche gewissermaßen eine Zuchtwahl der bewegungsfähigsten Individuen befördert. Das zu unseren Versuchen benutzte Serum entstammte einer Ziege, welche lange Zeit mit Cholerabacillen subkutan und intravenös vorbehandelt war und

deren Serum einen hohen Schutzwert besaß, der übrigens im Verlaufe der Versuchsreihe bei den verschiedenen Entnahmen große Differenzen aufwies.

Wahl der Sera.

Unsere Befunde schienen anfangs die Resultate von Pick zu bestätigen. Bei der Ausfällung der Gesamtglobuline durch Halbsättigung mit Ammoniumsulfat zeigte sich die Albuminfraktion ohne Antikörper, während alle vorhandenen (resp. nachweisbaren) Immunkörper in der Globulinfraktion sich vorfanden; doch stellte es sich bei der Betrachtung der Zahlenwerte sofort heraus, daß fast die Hälfte der im nativen Serum enthaltenen Immunkörper zu Verlust gegangen war. Wiederholungen der Versuche mit einem zweiten und dritten Choleraimmunserum ergaben dasselbe Resultat, zugleich zeigte es sich, daß eine Wiederholung der Ausfällung an dem wiedergelösten Globulin keinen weiteren wesentlichen Verlust an Antikörpern zur Folge hatte.

| | Ausfällung mit Ammoniumsulfat | Titer des benutzten Serums I.-E. im ccm | Immunkörper: Gehalt des Niederschlags | Immunkörper: Gehalt des Filtrates |
|---|---|---|---|---|
| Euglobulin 1. Versuch | schwächere Ausfällung s. o. | 5000 | 1000—1500 | 1000—1500 |
| Euglobulin 2. Versuch | stärkere Ausfällung s. o. | 5000 | 3000 | über 1000 |
| Fibrinoglobulinfällung | Ausfällung s. Protokolle | 6000—7000 | 1000—1500 | 5000—7000 |
| Globulinfällung durch Kohlensäure | | 6000—7000 | < 1000 | > 5000 |
| Gesamtglobulinfällung | Halbsättigung | 15000—20000 | 5000—10000 | < 200 |

Anmerk.: Die Wiederholungen der Versuche sind der Uebersichtlichkeit halber weggelassen und in den Protokollen am Schlusse der Arbeit nachzusehen.

Die Resultate der Euglobulinversuche waren je nach der Stärke der Ausfällung verschieden. Im ersten Versuch wurde die Ausfällung etwas schwächer vorgenommen, wie bei Pick, im zweiten Versuch etwas stärker.

| Ausfällungsmodus | | | | |
|---|---|---|---|---|
| bei Pick | Serum 2 | Wasser 4,4 | Ammoniumsulfat 3,6 |
| bei Wolff | „ 2 | „ 4,6 | „ 3,4 |
| | „ 2 | „ 4,2 | „ 3,8 |

Im ersten Versuch lag die Menge der Immunkörper im Euglobulinniederschlag zwischen 1000 und 1500, ebenso groß war dieselbe auch im Filtrat (Titer des ursprünglichen Serums 5000). Im zweiten Versuch (Titer des Serums zwischen 6000—7000) fanden sich in dem vollkommeneren Euglobulinniederschlage 3000 Immunitätseinheiten des Serums wieder, im Filtrat dagegen nur etwas über 1000. Es wurde hier die interessante Beobachtung gemacht, daß beim weiteren Stehen des Filtrats mit Ammoniumsulfat der Wert des Filtrats erst unter 1000 (nach 3 Tagen), nach weiteren 8 Tagen unter 750 sank. Bei späteren Versuchen zeigte sich die bemerkenswerte Tatsache, daß der **an sich schon hohe Wert des Filtrats an Immunkörpern noch um ein Bedeutendes höher sich darstellt, wenn man dasselbe nicht mehrere Stunden der Ammoniumsulfateinwirkung aussetzt,** sondern sofort filtriert und durch Herstellung

der Verdünnungen die schädliche Einwirkung des Ammoniumsulfats ausschaltet. Auch diese mehrmals wiederholten Versuche ergaben, daß nicht mehr als die Hälfte des Immunkörpergehaltes des nativen Serums in dem Euglobulinniederschlage aufzufinden ist, während je nach der Dauer der Ammoniumsulfateinwirkung der Wert des Filtrats ein verschiedener ist.

Da nach Pick die Gesamtmenge der Immunkörper sich in dem Euglobulinniederschlage vorfinden sollte, das Fibrinoglobulin dagegen von Pick ganz außer Betracht gelassen wurde, wurde auch eine Bestimmung der Immunkörper im Fibrinoglobulinniederschlage vorgenommen, um so mehr, als unsere bisherigen Versuche schon ziemliche Differenzen mit den Pickschen aufweisen. Der Fibrinoglobulinniederschlag (Serumtiter zwischen 6000 und 7000) enthielt zwischen 1000 und 1500 Immunitätseinheiten, das Filtrat zwischen 5000 und 7000 (also ca. 6000). (Weitere Bestimmung der Grenze zwischen 6000 und 7000 unterblieb.) Ein Verlust an Immunkörpern ist in diesem Versuche nicht zu konstatieren; die im Fibrinoglobulin vorhandene Immunkörpermenge ist bedeutent größer, als nach den Pickschen Angaben, welche das Euglobulin als den Träger des Immunkörper auffassen, vermutet werden konnte. Das Fehlen eines Immunkörperverlustes scheint dadurch bedingt zu sein, daß die zur Fibrinoglobulinausfällung notwendige Konzentration des Ammoniumsulfates auf die Immunkörper noch nicht schädlich wirkte.

Die unvollständige Globulinausfällung durch Kohlensäure ergab folgende Resultate (Einzelheiten siehe im Protokoll. Titer des Serums zwischen 6000 und 7000): In dem Globulin, das durch Kohlensäure gefällt worden war, fanden sich weniger als 1000 Immunitätseinheiten, im Filtrat dagegen über 5000. Ein Verlust an Immunitätskörpern ist hier ebenfalls nicht eingetreten.

Es ergeben sich aus den bisher vorliegenden Untersuchungen mit Sicherheit folgende Schlüsse: **Es ist irrig, anzunehmen, daß die Immunkörper an die Eiweißkörper des Serums, speziell an bestimmte Fraktionen desselben geknüpft seien.** Die Immunkörper werden zum Teil bei der Ausfällung der einzelnen Eiweißfraktionen rein physikalisch-mechanisch mitgerissen, und zwar mit dem Fibrinoglobulinniederschlag ca. $^1/_5$, mit dem Euglobulin- plus Fibrinoglobulinniederschlag ca. $^3/_8$, mit den Gesamtglobulinen ca. die Hälfte des Gesamtgehaltes an Immunkörpern. Diese Mitreißung erfolgt also ziemlich proportional der Stärke des Niederschlages. Durch die Einhüllung in das schwer diffusible Eiweiß werden die Immunkörper vor der schädlichen Einwirkung des Ammoniumsulfats und anderer eventuell einwirkender Stoffe geschützt, welche die im Serumfiltrat zurückgebliebenen Immunkörper in relativ kurzer Zeit vernichten und damit dem Nachweis entziehen, so daß es leicht den Anschein haben kann, als wären die gesamten, im Serum vorhandenen Immunkörpersubstanzen in dem Niederschlage einer bestimmten Fraktion enthalten. Aber bei dem quantitativen Arbeiten, das die Choleraimmunkörper ermöglichen, weist das Fehlen von fast der Hälfte der ehedem vorhanden gewesenen Immunkörper (eine Beobachtung, die sich bei jedem Versuch aufs neue wiederholt) mit Notwendigkeit darauf hin, daß das Ammoniumsulfat

im Filtrat die Antikörper zerstört, und es gelang uns auch durch eine geringe Aenderung in der Versuchsanordnung die Richtigkeit dieser Annahme zu beweisen. Es zerstört also die Halbsättigung mit Ammoniumsulfat die Immunkörper sofort, bei der zur Euglobulinausfällung notwendigen Salzkonzentration entziehen sich in kurzer Zeit relativ bedeutende Mengen dem Nachweis. (Sofort ca. $^1/_3$, in ca. 24 Stunden ein zweites Drittel, in ein bis zwei Wochen noch $^1/_6$ der ursprünglich im Filtrat zurückgebliebenen Antikörper.) Die Angaben beziehen sich auf die im Niederschlag nicht nachweisbaren, also im Filtrat zurückgebliebenen Immunkörper. Es ist der Schluß berechtigt, daß die fehlenden Immunkörper im Filtrat zerstört worden sind, einerseits weil die im Niederschlag befindlichen Immunkörper vor der schädlichen Einwirkung des Aussalzungmittels geschützt erscheinen und vor allem deshalb, weil bei sofortiger Untersuchung sich im Filtrat bedeutende Mengen von Antikörpern vorfinden, die beim längeren Stehen der Vernichtung anheimfallen. Ueber den Mechanismus dieser Einwirkung fehlen uns bisher die Vorstellungen vollständig, doch scheint manches für die Richtigkeit der Annahme zu sprechen, daß in dem Immunkörpergemisch, wie es das Immunserum darstellt, Immunkörper von verschiedener Vulnerabilität vorhanden sind.

Wir haben somit bewiesen, daß die Immunkörper ganz ähnlich wie andere Enzyme beim Ausfällen von Eiweißsubstanzen rein mechanisch zu einem Teil mitgerissen werden und im Niederschlag der schädlichen Einwirkung des zur Ausfällung verwendeten Mittels entzogen werden. Es folgt daraus die Irrigkeit der Schlußfolgerung, daß die Immunkörper Eiweißsubstanzen darstellen müssen, wenigstens fehlt bisher für diese Behauptung jede Spur eines Beweises, es sind auch nicht einmal Beziehungen der Immunkörper zu irgend einer Eiweißfraktion nachzuweisen. Es ist zu hoffen, daß danach endlich die zahlreichen Angaben der Lehrbücher etc. in dieser Richtung korrigiert werden; um ein Beispiel für viele anzuführen, so findet sich in dem berühmten „Lehrbuch der physiologischen Chemie von Hammarsten 1899“ folgender Passus: „Man hat eiweißartige Stoffe kennen gelernt — sogenannte Alexine oder Schutzstoffe im Blutserum — welche eine bakterientötende (bakterizide) Wirkung ausüben können. Auf der anderen Seite gibt es aber auch Stoffe von angeblich eiweißartiger Natur, die dem Tierkörper Immunität gegen die Infektion mit einer bestimmten Mikrobie oder Schutz gegen das von derselben Mikrobie erzeugte Gift, sogenannte Giftfestigkeit, erteilen.“ Sollte sich die vorläufige Mitteilung von Pröscher (Münch. med. Wochschr. 1902) bestätigen, der ein eiweißfreies Diphtherieantitoxin dargestellt haben will, so wäre damit die Beweiskette der Nichteiweißnatur der Antikörper als geschlossen zu betrachten. Es liegt mir fern, mit diesen Angaben irgendwie in den Streit über die Natur der Fermente eingreifen zu wollen; doch möchte ich hier erwähnen, daß auch Brieger und Cohn in ihrer Arbeit (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XV. p. 4) für das Choleragift-Endotoxin und das Tetanusgift zu dem Schlusse kommen, daß diese Stoffe keine Eiweißkörper vorstellen.

Alle bisher bekannt gewordenen Tatsachen sprechen dafür, daß die Bakteriolyse der Choleravibrionen am ehesten noch mit Verdauungsprozessen in Analogie zu bringen ist; der Hauptunterschied besteht in der Spezifizität der Auflösung der Choleravibrionen (wofür es aber auch

Analoga in gewissen Hefefermenten gibt) und dann in der Giftigkeit der bei der Auflösung gebildeten Verdauungsprodukte. So wird man der Ansicht zuneigen, daß die Immunkörper als Enzyme aufzufassen sind. Man unterscheidet nun in der physiologischen Chemie zwischen Fermenten als belebten Reaktionsauslösern und Enzymen als unbelebten. Nach den vorliegenden Tatsachen würden wir dann die Choleraimmunkörper den Enzymen zurechnen müssen, doch wird die Definition dieser beiden reaktionsauslösenden Körpergruppen noch dadurch erweitert, daß die Fermente durch bestimmte Konzentrationen von arseniger Säure, Salicyl, Borsäure, Fluornatrium, Chloroform, Aether u. s. w. abgetötet resp. in ihrer Wirkung gehemmt werden, während Enzyme durch diese Mittel nicht wesentlich beeinflußt werden. Da die Choleraimmunkörper nun durch Chloroform und Aether, Magnesiumsulfat (Proskauer und Pfeiffer), Ammoniumsulfat (Wolff) etc. vernichtet werden (von bloßer Hemmung kann keine Rede sein, da bei sofortiger Ausschaltung des Einflusses der Halbsättigung mit Ammoniumsulfat die Wirkung nicht wieder hergestellt werden kann), so verhalten sich die Enzyme des Choleraimmunserums in **dieser** Beziehung wie die Fermente.

Man hat lange Zeit geglaubt, daß das Ammoniumsulfat ein absolut indifferentes Mittel vorstellt, und daß durch die Einwirkung von Ammoniumsulfat weder die Eiweißkörper in ihrer Struktur verändert werden noch auch Fermente resp. Enzyme eine Schädigung erleiden. So stellt Raudnitz auf Grund dieses Aussalzungsverfahrens, das sich in der letzten Zeit bei der Isolierung von äußerst labilen Fermenten in ausgezeichneter Weise bewährt haben sollte und in hohem Maße die Sicherheit zu bieten schien, die labilsten Substanzen in keiner irgendwie in Betracht kommenden Art chemisch zu beeinflussen, fest, daß das $H_2O_2$ katalysierende und das Guajaktinktur bläuende Ferment der Milch verschiedene Körper seien, und Jakobi trennte mittels dieser Methode das Lebertrypsin von der Aldehydase. Es zeigt sich bei unseren Versuchen, daß das Ammoniumsulfat wenigstens nicht für alle enzymatösen Substanzen der absolut indifferente Körper ist, für den er so lange gehalten wurde, und es wird sich empfehlen, in der Auffassung der ausgesalzenen Eiweißfraktionen als nativen skeptisch zu sein. Doch geht aus zahlreichen früheren Untersuchungen hervor, daß die Ammoniumsulfat-Aussalzungsmethode zu den schonendsten gehört, die wir bisher besitzen (cf. auch Brieger und Cohn, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XV. p. 4). Doch ist noch zu untersuchen, ob durch Kombination der als unschädlich erscheinenden Kohlensäureausfällung mit Aussalzungen sich noch schonendere Verfahren aussinnen lassen.

Die prinzipielle Bedeutung der aus unseren Untersuchungen zu ziehenden Schlüsse nötigt uns, die wenigen vorliegenden Arbeiten einer genauen Besprechung zu unterziehen. Wir befinden uns in den wesentlichen Punkten in Uebereinstimmung mit der Arbeit von R. Pfeiffer und Proskauer: Beiträge zur Kenntnis der spezifisch wirksamen Körper im Blutserum von Choleraimmuntieren (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. 1896). Diese beiden Autoren hatten die Ausfällung der Globuline durch Sättigung mit Magnesiumsulfat bewirkt, hatten das Gemisch 24 Stunden bei 35° C stehen lassen, filtriert und dann mit halbgesättigter Magnesiumsulfatlösung nachgewaschen. Bei diesem Versuche fanden sich alle noch wirksamen Immunkörper in dem Globulinniederschlage. Die Albuminfraktion war unwirksam, jedoch waren $^2/_3$ der ursprünglich vorhandenen Immunitätseinheiten zu Verlust gegangen.

In einem zweiten Versuche wurde Magnesiumsulfat nicht in Ueberschuß, sondern nur bis zur einfachen Sättigung zugefügt (im Original: Es wurde soviel Magnesiumsulfat zugesetzt, als zur quantitativen Ausscheidung der Globuline erforderlich war). Jetzt fanden sich die Immunkörper im Niederschlage und im Filtrate in gleichmäßiger Verteilung. Der Verlust der Immunkörper ist nur ein sehr geringer; auch nach 2 Tagen ist die Wirksamkeit des Filtrats erhalten, nach 5 Tagen ebenfalls noch, jedoch geschwächt. Bei der (unvollständigen) Trennung der Globuline durch Dialyse mit nachfolgendem Zentrifugieren des Niederschlages wird der ursprüngliche Titer des Serums (Niederschlag plus Filtrat) nicht verändert. Die Globuline erhalten 30 Proz. der Antikörper, die Albumine also die bei weitem größere Menge. Es ist dieses Resultat in Analogie mit unserer (ebenfalls unvollständigen) Globulinfällung durch Kohlensäureeinwirkung zu setzen. Es muß jedoch unentschieden bleiben, ob die hier im Globulinniederschlag erhaltenen, relativ sehr geringen Immunkörpermengen dadurch zu erklären sind, daß durch Dialyse respektive Kohlensäureeinwirkung die Ausfällung der Globuline nur sehr langsam erfolgt und so rein mechanisch die Mitreißung erschwert ist, oder ob gerade die bei Anwendung dieser Methode nicht mitgefällten Globulinanteile den größeren Teil der Immunkörper mit sich reißen. Doch scheinen die beobachteten Tatsachen mehr für den ersteren Erklärungsversuch zu sprechen. Die Resultate dieser Arbeit von Pfeiffer und Proskauer aus dem Jahre 1896 decken sich demnach in allen wesentlichen Punkten mit den jetzt von uns gemachten Feststellungen. Pick, der auf Grund seiner Befunde ganz andere Schlüsse zieht, geht über diese Arbeit mit dem kurzen Bemerken hinweg, daß die damalige Technik der Eiweißausfällung keine richtigen Resultate hätte ergeben können. Es ist nun von vornherein klar, daß die Fällung mit Magnesiumsulfat eine gute Globulinfällungsmethode ist, und daß die geringen Differenzen, die vielleicht zwischen dieser und der Ammoniumsulfat-Ausfällungsmethode bestehen, an sich nicht genügen, um so prinzipiell differente Resultate zu erklären. Das war ja gerade der Grund, weshalb wir die von Pick erzielten Resultate unter Anwendung der von ihm selbst benutzten Ammoniumsulfat-Ausfällungsmethode nachprüften, nur bedienten wir uns bei diesen Untersuchungen der exakten Methoden der Choleraserumtitrierung, welche R. Pfeiffer ausgearbeitet hat. Da nur wenige unserer Resultate mit den Pickschen Schlüssen in Einklang gebracht werden können, so sind wir wohl verpflichtet, nachzuweisen, auf welche Weise diese Differenzen zu erklären sind, wo nach unserer Ansicht der Fehler der Pickschen Versuchsanordnung zu suchen ist. Gegen den chemischen Teil lassen sich natürlich keine Einwände erheben, dagegen ist das Arbeiten mit Cholerakulturen für denjenigen, der nicht durch längere Arbeit damit vertraut ist resp. nicht unter genügender Kontrolle steht, ein schwieriges. Wir haben im Vorhergehenden absichtlich die Ausführung der Pfeifferschen Technik der Cholerauntersuchungen mit so großer Ausführlichkeit geschildert, und wollen daher hier nur die Punkte berühren, in denen Pick davon abgewichen ist.

R. Pfeiffer, der in Bezug auf Choleravibrionen unbestreitbar die allergrößte Erfahrung besitzt, hat nach seiner Aussage nie Cholerakulturen gesehen, die eine höhere Virulenz als $^1/_{10}$—$^1/_{15}$ Oese besaßen. Die Kultur von Dr. Pick soll nach den Angaben von Dr. Keller,

wie in der Anmerkung zu lesen ist, eine Virulenz von $^1/_{100}$ Oese besessen haben. Herr Prof. Pfeiffer möchte die Richtigkeit dieser Angabe auf das entschiedenste bestreiten, und dieser Zweifel erhält dadurch noch objektiv Nahrung, daß in der großen Pickschen Arbeit sich nirgends ein Versuchsprotokoll findet, aus dem eine derartige Virulenz der Kultur hervorgeht. Die Kontrolltiere in der Pickschen Arbeit gingen durch Injektionen von $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ Oese zu Grunde, Angaben, die zwar auch die von Pfeiffer beobachtete Virulenz übersteigen, sich aber dadurch erklären lassen, daß die Größe der Oese, die nach Pfeiffers Vorschriften 2 mg Bakteriensubstanz enthalten soll, nirgends erwähnt wird, und eine etwas größere Oese einer Kultur, die nach unserer Auffassung z. B. eine Virulenz von $^1/_{10}$ Oese hat, mit einer Virulenz von $^1/_{15}$—$^1/_{20}$ Oese begabt erscheinen lassen kann. Jedoch können auch große Unterschiede in der benutzten Normalöse, doch nicht Differenzen in der Virulenz zwischen $^1/_{10}$ (Pfeiffer) und $^1/_{100}$ (Pick) Oese Virulenz erklären. Ferner sank die Virulenz der von Pick benutzten Cholerakultur nach der eigenen Angabe von Pick während der Versuchsreihe, ein für die zahlenmäßige Genauigkeit der Titrierungen sehr unerwünschtes Vorkommnis, wie wir im technischen Teile schon hervorgehoben haben. Aus welchem Grunde es nötig wurde, mit einer Kultur von geringerer Virulenz weiterzuarbeiten, ist wieder aus der Pickschen Arbeit nicht zu ersehen; da doch vorher angegeben wurde, daß die Kultur durch Tierpassagen ihre hohe Virulenz erhalten hatte, konnte es doch eigentlich keine Schwierigkeiten machen, sie auf der ursprünglichen Virulenzhöhe zu erhalten resp. sie wieder darauf zu bringen.

Wir kommen jetzt zu dem wichtigsten Punkte. Die Pfeiffersche Titerbestimmung des Serums beruht darauf, daß eine Bakterienmenge von 2 mg = 1 Oese = 10fach tödliche Dosis bei der Serumprüfung verwendet wird, und sind auf diese Zahlen sämtliche Pfeifferschen Serumtitrierungen aufgebaut. Die Ausführung der Titrierungen ist also so, daß das zu prüfende Serum zusammen mit einer Oese 12—20-stündiger Kultur einem Meerschweinchen von 200 g peritoneal injiziert wird, während das Kontrolltier, wenn anders die Kultur die richtige Virulenz besitzt, an $^1/_{10}$ Oese in ca. 24 Stunden zu Grunde gehen muß. Pick dagegen ging in der Weise vor, daß er dem Kontrolltier und demjenigen, an welchem der Gehalt des Serums an Antikörpern geprüft werden sollte, gleiche Mengen von Kultur injizierte ($^1/_{10}$ resp. $^1/_{20}$ Oese). Er befand sich damit, wie wir nach allen unseren Ausführungen annehmen müssen, in der Nähe der **einfach tödlichen Dosis**, und so ist es zu erklären, daß er sowohl für das native Serum als auch für den wirksamen Anteil der Fraktionen viel höhere Werte bekommen mußte, als er sie bei vorschriftsmäßiger Prüfung erhalten hätte. Trotzdem haben wir das von ihm benutzte Serum als ein geringwertiges zu bezeichnen, da es trotz Verwendung der einfach tödlichen Dosis nur 2000 Immunitätseinheiten enthielt. Ein geringwertiges Serum ist nun aber sehr gut geeignet, das Fehlen von Immunkörpern zu verdecken. Etwaige Verluste können hier so klein erscheinen, daß man sie als innerhalb der Fehlergrenzen liegend, betrachten zu dürfen glaubt.

Es ist überdies nicht von vornherein gleichgültig, welchen Titer die verwendeten Sera besitzen. So geht aus einer Arbeit von Ehrlich und Brieger (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XV. p. 444) hervor, daß sie eine relativ geringwertige (2000—6500 Einheiten) Tetanusantitoxinmilch durch Aussalzen mit Ammonsulfat auf den 400—600fachen Schutzwert bringen

konnten, während bei hochwertiger Milch (30000—90000) nur die 100-fache Konzentration der Antikörper erreicht wurde. Aus diesem Grunde benutzten wir zu unseren Versuchen Sera mit verschiedenem Titerwert, doch ergaben sich hieraus bei uns keine Differenzen in den Befunden.

Die Titerwerte des Serums sind, da die Bindung der Bakterienrezeptoren mit den Immunkörpern nach quantitativen Gesetzen vor sich geht, auf eine Bakterienmenge von 2 mg berechnet. Da nun nur ein Teil der vorhandenen Rezeptoren — vielleicht nur ein einziger — mit Immunkörpern gesättigt sein muß, um eine Auflösung der Vibrionen herbeizuführen, so ist es nicht angängig, die Menge der Bakteriensubstanz auf $^1/_{10}$ Oese herabzusetzen, selbst wenn man eine Kultur von der Virulenz $^1/_{100}$ Oese in der Hand hätte. — Da wir nun nach den in der Pickschen Arbeit vorhandenen Angaben uns zu der Annahme berechtigt halten, daß in den betreffenden Versuchen eine Dosierung gewählt wurde, welche nahe der einfach tödlichen Gabe liegt, so ermöglichten ihm nun individuelle Differenzen in der Widerstandskraft der einzelnen Tierindividuen, in der Euglobulinfraktion einen so hohen Titerwert zu erhalten, so daß er zu dem Glauben kommen konnte, daß er in der Euglobulinfraktion den gesamten Immunkörpergehalt des ursprünglichen Serums wiedergefunden hätte.

Es sei weiter noch erwähnt, daß die von Pick benutzten Tiere 250—300 g wogen, daß das Serum mit dem angenommenen Titer 2200 bis 2400 offenbar nicht bis zu Ende titriert ist, da das Tier, das $^1/_{2400}$ ccm Serum erhalten hatte, noch am Leben blieb, und daß nach Picks eigenen Angaben im Euglobulin nicht der volle Immunkörpergehalt, sondern nur ein Bruchteil desselben, 1600—2000 Einheiten (Differenz ist nicht näher begrenzt) nachgewiesen wurde, während sich im Pseudoglobulin 200—400 Einheiten, d. i. ca. der 7. Teil, vorfanden.

Da er nun alle Immunkörper in dem Euglobulin wiedergefunden zu haben glaubte, die Prüfung des Albumins ihm außerdem in einem früheren Versuche die Wirkungslosigkeit des Albuminfiltrates gezeigt hatte, machte er ohne weitere Prüfung des Euglobulinfiltrates die Deduktion, daß das Euglobulinfiltrat wirkungslos sein müsse, während man nach unseren Versuchen in demselben je noch $^1/_6$—$^2/_6$ der gesamten Immunkörpermenge vorfinden kann. Mit diesen Feststellungen fallen viele Hoffnungen zusammen, denen man sich in Bezug auf eine praktische resp. therapeutische Verwertung dieser Befunde hingegeben hatte. Die vorliegenden Untersuchungen erstrecken sich allerdings nur auf die Choleraimmunkörper, aber es verhalten sich nach allem, was wir über Immunitätsvorgänge wissen, die Typhusimmunkörper völlig analog, und da wir oben auseinandergesetzt haben, daß eigentlich nur die Choleraimmunkörper ein außerordentlich exaktes quantitatives Arbeiten ermöglichen, so werden auch die übrigen Resultate der Pickschen Arbeit vorläufig nicht als völlig sicher festgestellt gelten dürfen, da hier unüberwindliche experimentelle Schwierigkeiten die Exaktheit noch mehr erschweren.

Wenn man therapeutisch von dem Standpunkte ausgeht, bei Serumanwendung möglichst die Einführung körperfremden Eiweißes auf ein geringes Maß herabzusetzen, wird es kaum rationell erscheinen, z. B. die Euglobuline, welche schätzungsweise $^1/_3$ der Gesamteiweißkörper des Serums darstellen, mit ca. $^3/_8$ der Immunkörper des Serums zu benutzen, wenn es sich nicht vielleicht herausstellen sollte, wofür bisher jedoch nichts spricht, daß die Euglobuline für den tierischen resp. mensch-

lichen Organismus als relativ und absolut indifferenter anzunehmen sind als die Eiweißkörper des Vollserums.

Das Neue in den Pickschen Arbeiten war die Behauptung, daß die Antikörper mit einer eng begrenzten Fraktion des Serums ausfallen. Denn daß die Globuline die gesamten Antikörper enthalten, war schon von den verschiedensten Seiten, zum Teil unter Benutzung derselben Methodik, behauptet worden; es wird vielleicht von einigem Interesse sein, von dem jetzt gewonnenen Standpunkt aus diese Angaben Revue passieren zu lassen.

Nach Winterberg (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXII; Untersuchungen über das Typhusagglutinin und über die agglutinierbare Substanz der Typhusbacillen) fällt Sättigung des Serums oder Plasmas mit Magnesiumsulfat zusammen mit den Globulinen das Agglutinin und zwar in Seris mit niedrigem Titer **vollständiger** als in hochwertigen (s. o.). Dieselben Resultate hatten Widal und Sicard. Ebenso kann aus der Milch das gesamte Agglutinin zusammen mit dem Kaseïn durch Sättigung mit $MgSO_4$ gewonnen werden; hier gehen jedoch Spuren von Agglutinin in das Filtrat über, wenn die Milch sehr hochwertig war.

Widal und Sicard (Ann. de l'Instit. Pasteur. 1897. p. 378 und Acad. de méd. 1896. 29. Sept.) suchten den Nachweis zu führen, daß die Agglutinine nicht mechanisch in den Niederschlag mitgerissen worden seien, doch sagt schon Winterberg sehr richtig, aus den Versuchen dieser beiden Autoren gehe nur hervor, daß durch Alkoholeinwirkung die Agglutinine in dem Niederschlage zerstört seien; aus dieser Zerstörung lasse sich jedoch kein Schluß ziehen, ob die zerstörte Substanz mechanisch mitgerissen oder in organischer Bindung im Niederschlage enthalten gewesen sei.

Bei derartigen Ausfällungen erlitt Winterberg stets Verluste an wirksamer Substanz, für welche Erscheinung er keine Erklärung wußte; an einer anderen Stelle berichtet dieser Autor trotz dieser ganz zutreffenden Beobachtung, daß er die betreffenden wirksamen Substanzen quantitativ durch Ausfällung gewonnen habe; es findet sich diese Angabe so häufig in der Literatur; man darf aber doch von quantitativer Gewinnung eines Stoffes nicht sprechen, wenn durch die Prozedur ein Teil der wirksamen Substanz vernichtet worden ist und man alles, was noch vorhanden ist, in einer bestimmten Fraktion findet, sondern eine quantitative Methode kann nur die genannt werden, welche sämtliche ursprünglich vorhandenen Stoffe als Ausbeute ergibt. Es erscheint vielleicht kleinlich, auf derartige Definitionen einzugehen, doch ist auf dem so schwierigen Gebiete der Immunitätslehre die Korrektheit der Ausdrucksweise nicht unwesentlich und manche Irrtümer beruhen, wie wir gezeigt haben, auf der falschen Benutzung des Wortes „quantitativ“.

Es sei hier erwähnt, daß Brieger und Cohn (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XV. p. 5) angeben, daß es ihnen mit ihrer Methode gelungen sei, aus filtrierten Bouillonkulturen das Tetanustoxin „quantitativ“ zu gewinnen; nach den eigenen Angaben [1]) der Autoren enthielt ihr Produkt

1)

| Giftbouillon | | | Gewonnene feste Giftsubstanz | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,00005 ccm | = | 1 tödliche Dosis | 0,0000001 g | = | 1 tödliche Dosis |
| 0,5 „ | = | 10 000 „ „ | 1 „ | = | **10 000 000** „ „ |
| 1 „ | = | 20 000 „ „ | über 1 „ | = | etwas höhere Zahl |
| 1 l | = | **20 000 000** „ „ | s. l. c. | | |

nur 50 Proz. des Toxins, 50 Proz. sind bei den vorgenommenen Manipulationen zu Verlust gegangen. Die erreichte Konzentration bedeutet zwar einen großen Erfolg, doch deckt sich nach dieser Richtigstellung das Resultat völlig mit unseren jetzigen Befunden.

Der Vollständigkeit halber seien auch noch die Angaben über die Gewinnung des Diphtherie- und Tetanusantitoxins durch Ausfällung kurz angeführt. Eine Nachprüfung der Angaben mit genauer Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse wäre jedoch sehr wünschenswert.

Tizzoni (Virchows Festschr. Bd. III. p. 48) findet die ganzen Tetanusantitoxine an die Eiweißkörper gebunden, welche durch $MgSO_4$ ausgesalzen wurden, das Filtrat war frei von Antitoxinen. Nach Ender und Sternberg (zit. nach Seng, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. p. 514) werden die Diphtherieantitoxine durch Sättigung mit $MgSO_4$, Halbsättigung mit $(NH_4)_2SO_4$ ausgefällt, nach Seng (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXI. p. 531) verbleiben diese Antitoxine bei **den** Globulinen, welche bei der Dialyse nicht unlöslich werden (d. h. also: nicht ausfallen).

Belfanti und Carbone (Arch. per la science med. Vol. XXII. No. 2) vermißten die Antitoxine bei der (partiellen) Globulinfällung durch Kohlensäure und Essigsäure, ebenso Dieudonné (Veröffentl. d. Kais. Gesundheitsamtes. Bd. XIII. p. 293) bei Fällung durch Kohlensäure und durch Dialyse. Den mit $MgSO_4$ resp. $(NH_4)_2SO_4$ ausgefällten Globulinen haften auch nach Belfanti und Carbone die Diphtherieantitoxine an und Smirnow (Arch. des scienc. biol. publ. par l'Instit. Impér. de méd. expér. à St. Petersbourg. T. IV. 1895. No. 3) fand die Heilwirkung fast quantitativ im Niederschlage wieder. Ebenso soll nach Freund und Sternberg (Ueber Darstellung des Heilkörpers aus dem Diphtherieheilserum. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. p. 429) ein Verlust an Antitoxinen vermieden werden, wenn man in dem betreffenden Serum die Albumine durch Zufügung von $^1/_3$ Volumen einer 5-proz. Kalialaunlösung ausfällt und danach die die wirksame Substanz enthaltenden Globuline durch $(NH_4)_2SO_4$ oder $MgSO_4$ aussalzt.

**Zum Schlusse sei es mir gestattet, die Ergebnisse noch einmal kurz zusammenzufassen.**

Die Natur der Immunkörper ist durch die bisherigen Untersuchungen nicht festgestellt; die bekannt gewordenen Tatsachen sprechen dafür, daß die Immunkörper enzymartige Stoffe sind und daß der Vorgang der Bakteriolyse am ehesten mit dem Verdauungsphänomen in eine gewisse Analogie zu setzen ist.

Beziehungen der Immunkörper zu den Eiweißsubstanzen des Serums sind nicht nachweisbar. Die Immunkörper werden rein mechanisch in den Niederschlag bei den üblichen Aussalzungsverfahren mitgerissen. Die Angaben über den Zusammenhang der Globuline mit den Immunkörpern beruhen — sicher für die Choleraimmunkörper, mit Wahrscheinlichkeit auch für manche andere Antistoffe — auf Nichtbeachtung der quantitativen Verhältnisse.

Die Angabe von Pick über den Antikörpergehalt der Euglobulinfraktion konnte nicht einmal in der modifizierten Form bestätigt werden, daß das Euglobulin sämtliche mit den Globulinen ausfällbare Immunkörper enthält, da sich in der Fibrinoglobulinfraktion ca. $^1/_5$, im Euglobulin + Fibrinoglobulin ca. $^3/_8$, im Gesamtglobulin (Fibrinoglobulin + Euglobulin + Pseudoglobulin) ca. $^1/_2$ der Immunkörper vorfand.

Das Ammoniumsulfat ist nicht das indifferente Fällungsmittel, als das es bisher allgemein angesehen wurde. Verwendet man als Indikator die Choleraimmunkörper, so kann man feststellen, daß durch Halbsättigung mit Ammonsulfat ca. 50 Proz. dieser Antikörper in Verlust geraten. Die in dem Niederschlage enthaltenen Immunkörper bleiben wohl durch die schwer diffusible Eiweißhülle vor der Vernichtung durch die Ammoniumsulfateinwirkung bewahrt.

Am Ende der Arbeit möchte ich mir gestatten, meinem verehrten Chef, Herrn Prof. R. Pfeiffer, für die Anregung zu dieser Untersuchung und für das rege Interesse, das er der Arbeit entgegenbrachte, meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Der chemische Teil der Untersuchungen wurde im pharmakologischen Institute der Universität Königsberg ausgeführt, bis wir die schädigenden Wirkungen der langen Ammoniumsulfateinwirkung bemerkten, welche uns zwang, das Filtrat sofort weiter zu verarbeiten, was dann im hygienischen Institute selbst geschah.

Herrn G.R. Jaffé danke ich ergebenst für die freundlich gewährte Erlaubnis, in seinem Laboratorium die Fällungen ausführen zu dürfen, Herrn Privatdozenten Dr. Ellinger für die Liebenswürdigkeit, mit der er seinen Rat mir zur Verfügung stellte.

## Protokolle zu: Untersuchungen über den Gehalt der Eiweißfraktionen des Serums (Globuline, Euglobuline etc.) an Immunkörpern.

### Reihe I.

Serum I.

### Globulinfällung.

Titer des Serums $^1/_{15000}$—$^1/_{20000}$ (Virulenz der benutzten Cholerakultur $^1/_{10}$ Oese). 5 ccm dieses Serums werden mit 5 ccm gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt, 5 Stunden im Eisschranke stehen gelassen, filtriert durch gehärtetes Filter, 4mal nachgewaschen mit halbgesättigter Ammoniumsulfatlösung, nach 24 Stunden Rückstand in 7 ccm Wasser gelöst. Verdünnungen auf das ursprüngliche Serumvolumen umgerechnet.

**Globulin**

Meerschweinchen von 200 gr Gewicht
Verdünnung 1:5000
nach 20 Minuten zahlreiche Vibrionen
„ $^3/_4$ Stunde viele Granula, Vibrionen mäßige Mengen
„ $3^1/_2$ Stunden einz. Granula, Prozeß abgelaufen
„ 24 Stunden Tier lebt, keine Vibrionen

| 1:10 000 M 200 g | 1:10 000 M 200 gr |
|---|---|
| nach $^1/_4$ St. zahlr. Vibr., Gran. mittel | nach $^1/_2$ Std. einzelne Granula |
| „ $^1/_2$ „ halb Gran., halb Vibr. | „ $3^1/_2$ Std. einz. Gr., zahlr. Vibr. |
| „ $1^3/_4$ „ Gran., Vibr. āā | „ 12—15 Std. † |
| „ 14 „ Gran., zahlr. Vibr., Leuk. | Sekt. zahlr. Vibr., Leukocyten |
| „ 17 „ zahlr. Gran., zahlr. Vibr., Leukocyten | Grenze der Wirksamkeit |
| „ 25 „ zahllose Vibr., Leukocyten | |
| Nachts †, Sekt. zahlr. Vibr. | |

**Albumin** M 250 gr

Verdünnung 1:200
nach 20 Min. Granula, zahlreiche Vibrionen
„ $^3/_4$ Std. wenig Granula, viel Vibr.
„ $3^3/_4$ „ Vibr. spärlich, Leukocyten
„ 6 „ Vibr. mittel, Gran. zahlr., Leukocyten
16 Stunden †
Bei der Sekt. findet sich wenig Exsudat, Granula, zahlreiche Vibrionen, Leukocyten

1:200 3 Tage dialysiert
nach $^1/_2$ Stunde einzelne Granula, viele Vibrionen
„ $3^1/_2$ Stunden zahlreiche Vibrionen
„ 12 „ †
Sekt. zahlreiche Vibrionen

Kontrolltier $^1/_{10}$ Oese.
$1^3/_4$ Stunden Granula $^1/_4$, Vibrionen zahlreich $^3/_4$, † 12 Stunden

Kontrolltier II $^1/_5$ Oese.
† 6 Stunden. Zahlreiche Vibrionen im Peritonealexsudat.

## Wiederholung der Gesamtfällung der Globuline.

Serum. Titer $^1/_{6000}$

M 200 g
Globulin 1:3500
nach $^1/_2$ Std. Vibrionen, einzelne Granula — Titer also unter 3500
„ $1^1/_2$ „ dito
„ 3 „ Vibrionen
„ 20 „ †, Vibrionen

Globulin 2mal hintereinander ausgefällt.

Serum. Titer $^1/_{6000}$

M 230 g
1:2000
nach $^3/_4$ Stunde Vibrionen, Granula āā
„ $1^1/_2$ Stunden dito
„ 14 „ Prozeß abgelaufen, Leukocyten, vereinzelte Granula

Also kein wesentlicher weiterer Verlust durch wiederholte Fällung

### Reihe II.

Serum vom Titer $^1/_{5000}$.

## Euglobulinausfällung.

Serum 5 (2), Wasser 11,5 (4,6), Ammonsulfat 8,5 (3,4).
24 Stunden im Eisschrank, filtriert und der Niederschlag gelöst, auf das ursprüngliche Serumvolumen umgerechnet.

| Filtrat der Euglobulinfällung | Euglobulin |
|---|---|
| 1:120<br>M 180 gr<br>nach $^1/_2$ Stunde Granulabild.<br>„ $1^1/_4$ Stdn. nur Granula, keine Leukocyten<br>„ $3^1/_2$ „ Granula, viel Leukocyten<br>„ 24 „ lebt, kein Exsudat mehr | 1:4000 200 gr schwer<br>nach $^1/_2$ Stde. Granula $^2/_3$, Vibrionen $^1/_3$<br>„ $1^1/_4$ Stdn. Granula, Vibrionen<br>† „ $3^1/_2$ „ wenig Gran., viel Vibr.<br>„ 24 „ zahllose Vibrionen<br>„ 28 „ † |
| 1:720<br>M 200 gr<br>nach $^1/_2$ Stde. Vibrionen, zahlr. Granula<br>„ 3 Stdn. Vibrionen, Granula āā<br>„ 20 „ fast kein Exsudat, Leukocyten | 1:400<br>nach $^1/_2$ Stde. viel Granula, wenig Vibr.<br>„ $1^1/_4$ Stdn. nur Granula<br>„ $3^1/_2$ „ Granula, Leukocyten<br>„ 24 „ lebt, kein Exsudat |
| 1:1440<br>M 190 gr<br>nach $1^1/_4$ Stunden Vibr. zahlr., vereinz. Granula,<br>„ 18 „ †, zahllose Vibrionen | 1:1000 M 200 gr<br>nach $^1/_2$ Stde. Vibrionen, Granula āā<br>„ 2 Stdn. dito<br>„ 29 „ fast kein Exsudat, Leukoc. einzelne Granula |
| 1:960<br>M 200 gr<br>nach $^1/_2$ Stde. Vibrionen, einzelne Granula<br>„ $1^1/_4$ Stdn. überwieg. Gran., einz. Vibr.<br>„ 14 „ zahlr. Leukoc., vereinz. Gran., keine Vibrionen | 1:200 M 200 g<br>† {nach $1^1/_4$ Stde. Vibrionen, Granula āā<br>„ 18 Stdn. †, zahllose Vibrionen} |
| Kontrolltier<br>Virulenz $^1/_{10}$ Oese tötet in 24 Stunden | 1:1500 185 gr<br>† {nach $^1/_2$ Stde. Vibrionen, einz. Gran.<br>„ $1^1/_4$ Stdn. dito<br>„ 14 „ zahllose Vibrionen<br>„ 20 „ †, zahllose Vibrionen} |

## Wiederholung der Euglobinversuche.

Die Ausfällung wird diesmal etwas stärker vorgenommen, wie bei Pick.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ausfällungsmodus | Pick-Serum | 2,0 | Wasser | 4,4 | Ammonsulfat | 3,6 |
| | Wolff-Serum | 2,0 | „ | 4,2 | „ | 3,8 |
| | resp. | 5,0 | resp. | 10,2 | resp. | 9,2 |

Serum vom 21. Dez. Titer {1:5000 u. 1:6000} schützt {1:7000 1:8000} Tiere sterben, also Titer $^1/_{6000}$—$^1/_{7000}$

**Euglobulinfiltrat**

M 210 gr 1 : 1000
nach $^1/_2$ Stde. Vibr. $^2/_3$, Gran. $^1/_3$ (zahlreich)
„ 3 Stdn. Granula, einzelne Vibrionen
„ $4^1/_2$ „ zahlreiche Leukocyten
„ 20 „ Proz. abgelaufen, Leukocyten

M 210 gr 1 : 2000
nach $^1/_2$ Stde. zahlreiche Vibr., einz. Gran.
„ 3 Stdn. dito
„ $4^1/_2$ „ zahlr. Vibr., mittel Leuk.,
„ 20 „ †, zahlr. Vibrionen, Leukocyten, einzelne Granula

**Dasselbe Euglobulinfiltrat**
nach 8 Tagen
1 : 1000
M 210 g
nach $1^1/_4$ Std. Vibr., Gran. āā, Gran. etwas überwiegend
„ $2^1/_4$ „ Ueberwieg. der Vibr.
„ 20 „ †, zahlr. Vibr., einzelne Granula
} schützt jetzt nicht mehr

nach 14 Tagen
Euglobulinfiltrat 1 : 750
nach 50 Min. Vibr., Granula āā
„ 3 Std. Vibr. > Granula †
„ $4^1/_2$ „ Vibr. sehr zahlreich
„ 18 „ †, zahlreiche Vibr.
} schützt jetzt nicht mehr

nach 14 Tagen
Euglobulinfiltrat 1 : 500
nach 1 Stunde Granula
„ 3 Std. Granula, Leukocyten Epithelien
„ $4^1/_2$ „ dito
„ 18 „ lebt, Leuk., Epithelien
} schützt noch

nach 3 Wochen 1 : 500
nach 1 Std. Gran., einz. Vibrionen
„ 3 „ Granula, abgelaufen
} schützt noch

Kontrolltier
Virulenz $^1/_5$ Oese tötet in 12 Stunden
nach 1 Stde. Gran., sehr zahlr. Vibrionen
„ 11 Stunden zahlreiche Vibrionen

**Euglobulin**

M 210 gr 1 : 1000
nach $^1/_2$ Stunde Granulabild.
„ 3 Std. abgelaufen, Leukoc., einzelne Granula
„ 20 „ Leukocytose

M 210 gr 1 : 2000
nach $^1/_2$ Stunde Granulabild., ganz vereinz. Vibrionen
„ 3 Std. zahlr. Leukoc., zahlr. Gran.
„ 20 „ Leukocyten

M 210 gr 1 : 3000
nach $^1/_2$ St. einz. Gran. überw. Vibr.
„ $1^1/_4$ „ Vibr. āā (zahlr.), Gran.
„ 14 „ abgelauf. (Leukocytose)
} Grenze

1 : 4000
nach 1 Std. Vibr. sehr zahlr., Gran. zahlr.
„ 12 Stunden †, zahllose Vibrionen

2. Versuch.
1 : 3000
M 200 gr
nach $1^1/_4$ St. Vibrionen, Gran. āā
„ $2^1/_4$ „ Vibrionen beginnen zu überwiegen
„ 20 „ †, zahlr. Vibrionen
} Grenze

## Sofortige Vernichtung der Immunkörper durch Halbsättigung mit Ammoniumsulfat.

Serum: Titer 1 : 15 000—1 : 20 000
Halbsättigung mit Ammoniumsulfat, sofortige, 3 Tage dauernde Dialyse.
Dialysiertes Serum
1 : 10 000

M 200 gr
nach $^1/_2$ Stunde Granula, Vibrionen āā
„ $3^1/_2$ Stunden viel Vibrionen, wenig Granula
„ 13 „ †
Sekt. zahlreiche Vibrionen und Leukocyten.

**Reihe III.**

## Fibrinoglobinversuche.

Es wurde die mittlere Ausfällungsgrenze nach Pick gewählt. Es fiel dabei ein sehr geringer Niederschlag, fast nur als Trübung zu bezeichnen. Derselbe wurde 2mal filtriert und mit der betreffenden zur Fällung benutzten Ammoniumsulfatlösung nachgewaschen.

Serum vom 21. Dez. Titer $^{1}/_{6000}$—$^{1}/_{7000}$.

| **Fibrinoglobulin** | **Fibrinoglobulinfiltrat** |
|---|---|
| 1 : 100 M 200 gr<br>nach 1 Stunde Granula<br>„ $4^{1}/_{2}$ Stunden Leukocyten, noch einzelne Granula<br>„ 18 „ Leukocyten, Epithelien | 1 : 1000 M 200 gr<br>nach 1 Stunde Granula<br>„ 5 Stunden Leukocyten, Epithelien, einzelne Granula<br>„ 18 „ dickes Exsudat, Leukocyten, Epithelien |
| 1 : 1000 M 200 gr<br>nach 1 Stunde Granula $^{3}/_{4}$, Vibrionen $^{1}/_{4}$<br>„ $4^{1}/_{2}$ Stunden Granula, Leukocyten<br>„ 18 „ dickflüssiges Exsudat | 1 : 3000 M 200 gr<br>nach 1 Stunde Granulabildung<br>„ 5 Std. Leukocyten, Epithelien, Granula<br>„ 18 „ Exsudat dickflüssig, Epithelien, Leukocyten |
| 1 : 1500 M 200 gr<br>nach 1 Stde. Vibrionen, Granula āā (Vibr. sehr zahlreich)<br>„ $1^{3}/_{4}$ Stdn. Vibrionen $^{2}/_{3}$, Granula $^{1}/_{3}$, †<br>„ 4 „ zahlreiche Vibrionen, einzelne Granula<br>„ 18 „ † zahlreiche Vibrionen | 1 : 5000 M 200 gr<br>nach 1 Stunde Granula $^{2}/_{3}$, Vibrionen $^{1}/_{3}$<br>„ $1^{3}/_{4}$ Stdn. Granula $^{2}/_{3}$, Vibrionen $^{1}/_{3}$<br>„ 4 „ Leukocyten, Epithelien, einzelne Granula<br>„ 18 „ Leukocyten, Epithelien |
| | 1 : 7000 M 200 gr<br>nach 50 Minuten Vibrionen > Granula<br>„ 3 Stdn. Vibrionen zahlreich, einzelne Granula<br>„ $4^{1}/_{2}$ „ zahlreiche Vibrionen, einzelne Granula<br>„ 18 „ †, zahlreiche Vibrionen |

Kontrolltier
Virulenz $^{1}/_{5}$ Oese tötet in 12 Stunden.
$^{1}/_{10}$ „ nach 5 Stunden, zahlreiche Vibrionen neben zahlreichen Leukocyten. 20 Stunden †, zahlreiche Vibrionen, großes zellarmes Exsudat.

## Unvollständige Globulinausfällung durch Kohlensäure.

Es wird versucht, die Globuline durch $CO_2$ auszufällen; zu dem Zwecke werden 10 ccm Serum mit 30 ccm Wasser versetzt und 1 Stunde $CO_2$ durchgeleitet. Ueberschäumen muß durch Regulieren des Gasstromes verhindert werden. Es fällt ein geringer Niederschlag, der abfiltriert wird; nachher wird in das Filtrat nochmals $^{3}/_{4}$ Stunde $CO_2$ geleitet, es entsteht nochmals eine leichte Trübung; nochmalige Filtration. Auflösung des Filterrückstandes in 10 ccm Wasser.

Serum vom 21. Dez. Titer $^{1}/_{6000}$—$^{1}/_{7000}$.

| **$CO_2$-Globulin** | **$CO_2$-Globulinfiltrat** |
|---|---|
| 1 : 100 M 200 gr<br>nach 1 Stunde Granulabildung<br>„ 5 Stunden Leukocyten, Granula<br>„ 18 „ Leukocyten, Epithelien | 1 : 1000 M 200 gr<br>nach 1 Stunde Granula<br>„ 5 Std. Granula, Leukocyten<br>„ 18 „ Leukocyten, Epithelien, Granula |
| 1 : 1000 M 210 gr<br>nach 1 Stunde Vibrionen, Granula āā<br>„ 5 Stunden zahlreiche Vibrionen, einzelne Granula<br>„ 18 „ †, zahlreiche Vibrionen | 1 : 3000 M 200 gr<br>nach 1 Stunde Granula<br>„ 5 Stunden Leukocyten, Granula<br>„ 18 „ Leukocyten |
| 1 : 750 M 200 gr<br>nach 1 Stunde Vibrionen, Granula āā<br>„ $1^{3}/_{4}$ Stunden zahlreiche Vibrionen<br>„ 4 „ zahlreiche Vibrionen<br>„ 18 „ †, zahlreiche Vibrionen | 1 : 5000 M 200 gr<br>Grenze { nach 1 Stde. Vibr. $^{1}/_{3}$, Gran. $^{2}/_{3}$<br>„ $1^{3}/_{4}$ Stdn. Gran., einz. Vibr.<br>„ 4 „ Leuk., einz. Gran.<br>„ 18 „ Leuk., Epithelien } |
| | 1 : 7000 M 200 gr<br>† { nach 50 Minuten Vibr., wenig Gran.<br>„ 3 Stdn. Vibr. > Gran.<br>„ $4^{1}/_{2}$ „ Vibr. zahlr., einz. Gran.<br>„ 18 „ † zahlr. Vibr. } |

Virulenz s. vorige Tabelle.

Es wird versucht, ob das Euglobulinfiltrat nicht eine noch größere Zahl von Immunitätseinheiten enthält wie 1000, wenn man die Einwirkung des Ammonsulfats verkürzt. Ausfällung ebenso wie im früheren Versuch.

---

Serum 3, Wasser 6,6, Ammon. sulf. 5,4; 5 Minuten stehen gelassen, dann 2mal filtriert.

---

**Euglobulinfiltrat**
1:2000 M 210 gr
nach 1 Stunde Vibrionen $^{2}/_{3}$, Granula $^{1}/_{3}$
„ 3 Stdn. Vibrionen, sehr zahlreich
„ 18 „ Vibrionen, sehr zahlreich, †

Euglobulinfiltrat
1:3000 M 215 gr
nach 1 Stunde Vibrionen $^{2}/_{3}$, Granula $^{1}/_{3}$
„ 3 Stdn. Vibrionen sehr zahlreich
„ 18 „ Vibrionen sehr zahlreich, †

Euglobulinfiltrat
1:1000 M 205 gr
nach $^{1}/_{2}$ Stunde Vibrionen, Granula āā
„ 1 „ Vibrionen $^{1}/_{4}$, Granula $^{3}/_{4}$
„ 3 Stunden Granula, Leukocyten

Nochmalige Herstellung des Filtrates.

1:1500 M 200 gr
nach $^{1}/_{2}$ Stunde Vibrionen, Granula āā
„ 1 „ Granula $^{3}/_{4}$, Vibrionen $^{1}/_{4}$
„ 3 Stunden Granula, einz. Vibrionen

1:2000 M 210 gr
Grenze { nach $^{3}/_{4}$ Stunde Vibr., Gran. āā
„ $1^{3}/_{4}$ Stdn. Vibr. $^{1}/_{5}$, Gran. $^{4}/_{5}$
„ 3 „ Vibr. überwiegend
„ 24 „ †, Vibr. zahlreich }

Der Euglobulinversuch wird noch zum 3. resp. 4. Male als Kontrollversuch wiederholt. Ausfällung wie im vorigen Protokoll.

---

Es wurde das Filtrat sofort nach der 2. Filtration untersucht und zwar 1:1800 (im vorigen Versuch Grenze 1:2000)

---

Serum vom 21. Dez. 1902. Titer 6—7000.

Euglobulinfiltrat
1:1800 M 200 gr
nach $^{3}/_{4}$ Stunde Vibrionen $^{1}/_{3}$, Granula $^{2}/_{3}$
„ $1^{1}/_{2}$ Stunden Granula
„ 3 „ Granula, einzelne Leukocyten
„ 16 „ Granula, Leukocyten, Epithel

Euglobulin
(Grenze 1 : 3000 in 3 früheren Versuchen)
zur Kontrolle 1 : 2500 M 195 gr
nach $^{3}/_{4}$ Stde. Granula, einzelne Vibrionen
„ $1^{1}/_{2}$ Stdn. Granula, ganz vereinzelte Vibrionen
„ 3 „ Granula, Leukocyten
„ 16 „ Leuk., Prozeß abgelaufen

---

Halbsättigung mit Ammoniumsulfat und Untersuchung des frischen Filtrats.

---

Serum. Titer $^{1}/_{6000}$—$^{1}/_{7000}$.

Globulin 1:4000 M 200 gr
nach $^{3}/_{4}$ Stunde Vibrionen, Granula āā
„ $1^{1}/_{2}$ Stunden Vibrionen, Granula āā
„ $3^{1}/_{2}$ „ zahlreiche Vibrionen
„ 18 „ †, zahlreiche Vibrionen

Albumin 1:1000 M 210 gr
nach 35 Min. Vibrionen, einzelne Granula
„ $1^{1}/_{2}$ Stdn. Vibrionen, einzelne Granula
„ 3 „ Vibrionen
„ 18 „ †, zahlreiche Vibrionen

1:100 M 200 gr
nach 45 Min. Vibrionen, einzelne Granula
„ $1^{1}/_{2}$ Stdn. Vibrionen, einzelne Granula
„ $3^{1}/_{2}$ „ Vibrionen
„ 18 „ †, zahlreiche Vibrionen

---

Kontrolltiere
Virulenz $^{1}/_{5}$ Oese tötet M von 260 gr in 14 Stunden.
$^{1}/_{10}$ „ „ „ „ 200 „ „ 24 „

## Nachtrag.

Wir haben, um die bei dem wiederholten Fällen und Auflösen der Niederschläge unvermeidlichen Verluste auf das geringste Maß zu beschränken, in einer Reihe von Versuchen nur einmalige Fällung mit Ammoniumsulfat angewandt, nachdem wir uns überzeugt hatten, daß nach mehrmaliger Ausfällung die Resultate sich nicht wesentlich anders gestalten. Es ist jedoch zu bedenken, daß auf diese Weise die schwächere Fällung einen gewissen Anteil an schwerer fällbaren Substanzen enthalten kann.

Wir hatten ferner, um die Versuche zu vereinfachen, aus einer Serumprobe immer nur eine Fraktion dargestellt, also z. B.:

Euglobulin — Euglobulinfiltrat (ohne weitere Differenzierung).

Wir mußten daher noch in einem Versuche, wie Pick es getan, uns aus einem Serum gleichzeitig die verschiedenen Fraktionen herstellen und durch wiederholte Umfällung eine Reinigung der Fraktionen zu erreichen suchen. Es sei gleich bemerkt, daß die auf diese Weise erzielten Resultate in guter Uebereinstimmung mit den vorher angestellten Versuchen sich befinden.

Wir benutzten dazu ein Serum, dessen Titer zwischen 20000 und 30000 (also circa 25000) lag. Es sei nebenbei erwähnt, daß dies Serum das höchstwertige Choleraimmunserum darstellt, das man bisher erhalten konnte.

10 ccm dieses Serums werden mit 5 ccm konzentrierter Ammoniumsulfatlösung versetzt, der Niederschlag in 15 ccm Wasser gelöst, dann bei $^1/_3$ Sättigung (7,5 ccm konzentrierte Ammoniumsulfatlösung hinzugefügt) noch einmal gefällt. Der Niederschlag auf dem Filter wird in 10 ccm Wasser (dem ursprünglichen Volumen) gelöst (Euglobulinlösung).

Das Filtrat, eine $^1/_3$ gesättigte Ammoniumsulfatlösung darstellend, wird durch Zusatz von konzentrierter Ammoniumsulfatlösung ($^1/_3$ des Volumens des Filtrates) auf Halbsättigung gebracht, das Pseudoglobulin im ursprünglichen Volumen (10 ccm) gelöst, die Lösung durch Zusatz von 5 ccm konzentrierter Ammoniumsulfatlösung auf $^1/_3$ Sättigung gebracht und das Pseudoglobulin nach Pick von Euglobulinresten befreit, die auf das Euglobulinfilter gebracht wurden. (NB. Ihre Menge war eine minimale.) Dann wird das Filtrat durch Zusatz von $^1/_3$ Volumen gesättigter Ammoniumsulfatlösung auf Halbsättigung gebracht, das Pseudoglobulin vom Filtrat, welches eine Albuminlösung vorstellt, abfiltriert.

Titer des Serums 20000—30000.

### Prüfung des Albumins.

Meerschweinchen 250 g.

| | | | |
|---|---|---|---|
| | Verdünnung 1 : 100: | | |
| nach | 1 | Stunde | Vibrionen, zahlreiche Granula |
| „ | $1^3/_4$ | Stunden | Granula, noch einzelne Vibrionen |
| „ | 3 | „ | Leukocyten, Granula, einzelne Vibrionen |
| „ | 24 | „ | Tier lebt, Leukocyten, Epithelien, Granula |
| | 1 : 200: | | |
| nach | $^1/_2$ | Stunde | Vibrionen $^2/_3$, Granula $^1/_3$ (zahlreich!) |
| „ | $1^1/_2$ | Stunden | zahlreiche Vibrionen |
| „ | 3 | „ | dito |
| „ | 20 | „ | Tier †, zahlreiche Vibrionen |

### Euglobulin.

| 1 : 3000: M 205 gr | 1 : 7000: M 200 gr |
|---|---|
| nach 1 Stunde Granula | nach $^{1}/_{2}$ Stunde Vibrionen, Granula āā |
| „ 3 Stdn. Granula, Leukocyten | „ $1^{1}/_{2}$ Stunden Granula |
| „ 24 „ lebt, Leukocyten, Epithelien | „ 3 „ Granula, Leukocyten |
| | „ 24 „ Leukocyten |

1 : 10 000: M 200 gr
nach $^{3}/_{4}$ Stunde Granula, Vibrionen āā
„ 3 Stunden Vibrionen zahlreicher als Granula
„ 14 „ †, zahlreiche Vibrionen
} Grenze

### Pseudoglobulin.

| 1 : 1000: M 195 gr | 1 : 2000: M 190 gr |
|---|---|
| nach 1 Stunde Granula | nach $^{1}/_{2}$ Stunde Vibrionen, Granula āā |
| „ 3 Stunden Granula, Leukocyten | „ $1^{1}/_{2}$ Stunden Granula |
| „ 24 „ lebt, Leukocyten | „ 3 „ Granula, Leukocyten |
| | „ 24 „ lebt, Leukocyten |

1 : 4000: M 200 gr
nach $^{3}/_{4}$ Stunde Vibrionen zahlreich
„ $1^{1}/_{2}$ Stdn. dito
„ 4 „ dito
„ 14 „ sterbend, zahllose Vibrionen
„ 15 „ †, zahllose Vibrionen

Anmerkung. Es sei noch erwähnt, daß sämtliche Ausfällungen und Filtrationen im Dunkeln vorgenommen worden sind, um Antikörperverluste durch Lichteinwirkung auszuschließen.

---



# Vergleichende Untersuchungen über Antistreptokokkensera nebst einigen Bemerkungen über die Kultur und Virulenz der Streptokokken.

[Aus dem Kaiser und Kaiserin Friedrich-Kinderkrankenhaus zu Berlin. (Direktor Prof. Dr. A. Baginsky.)]

Von **Paul Sommerfeld,** wissenschaftl. Assistenten des Krankenhauses.

In seinem Vortrag über die Anwendung des Antistreptokokkenserums bei Scharlach weist A. Baginsky[1]) mit Nachdruck darauf hin, daß er therapeutische Versuche mit dem von Aronson hergestellten Serum erst begonnen hat, nachdem er sich in Tierversuchen einmal von der Unschädlichkeit dieses Mittels und zweitens von der Wirksamkeit desselben überzeugt hatte. Die erste Forderung, die an ein derartiges Serum gestellt werden muß, ist die Prüfung seiner Wertigkeit, und wenn diese Möglichkeit fehlt, so entfällt damit, wie Tjaden[2]) mit Recht sagt, die erste an ein brauchbares Heilmittel zu stellende Forderung, die der genauen Dosierbarkeit.

Im Auftrage von Herrn Prof. Baginsky stellte ich im Laboratorium des Kinderkrankenhauses zunächst mit dem von Herrn Dr. Aronson dargestellten und uns zu Versuchen freundlichst überlassenem

1) Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 48/49.
2) Hyg. Rundschau. 1902. No. 22.

Antistreptokokkenserum eine Reihe von Tierversuchen an; später dehnte ich diese Versuche auf eine Anzahl anderer Streptokokkensera aus. Ueber die Ergebnisse soll im folgenden berichtet werden. Zur Prüfung gelangten: 1) Antistreptokokkenserum von Dr. Aronson Opus I—III, 2) Serum von Prof. Tavel, Bern, bezogen von der Serumgesellschaft zu Landsberg a. W., 3) Serum Roux, aus dem Institut Pasteur, und 4) Serum Moser-Paltauf aus Wien. Herrn Prof. Roux und Herrn Dr. Moser sei an dieser Stelle verbindlicher Dank ausgedrückt für die liebenswürdige Ueberlassung ihrer Sera.

Als Versuchstiere dienten durchweg weiße Mäuse; das Serum wurde intraabdominal injiziert, unter Verwendung etwas stumpfer Kanülen (zur Vermeidung von Verletzungen), die stets 24 Stunden alte Streptokokkenbouillonkultur — ebenfalls intraabdominal — 24 Stunden später. Diese Art des Arbeitens gibt gleichmäßigere Resultate als die gleichzeitige Injektion einer Mischung von Serum und Kultur [1]). Die erforderlichen Verdünnungen wurden stets mit 0,9-proz. steriler Kochsalzlösung hergestellt.

## I. Versuche mit Antistreptokokkenserum Aronson.

1.

Serum A. Opus I. Streptokokken aus Knochenmark einer Scharlachleiche gezüchtet, durch Mäusepassage hochvirulent gemacht. Der Stamm ist seiner Zeit von Aronson zur Herstellung des Serums verwandt worden. 0,000001 ccm Bouillon tötet eine Maus in 2 Tagen.

| Journal-No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 110 | 0,10 | 21. I. 02 | 0,000015 | 22. I. 02 | l. am 25. II. |
| 111 | 0,03 | „ | 0,000015 | „ | l. am 25. II. |
| 112 | 0,01 | „ | 0,000015 | „ | † Std. 3. nach Injektion (Trauma) |
| 113 | 0,01 | „ | 0,000015 | „ | l. am 25. II. |
| 114 | Kontrolltier | | 0,000015 | „ | 24. I. 02 † |

l. = lebt.

2.

Serum und Kultur wie bei Versuch 1.
0,000001 ccm töten eine Maus innerhalb zweier Tage.

| Journal-No. | Injizierte Serummenge ccm | Tag der Injektion | Injizierte Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang | Datum des Ausgangs |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 115 | 0,30 | 26. II. 02 | 0,00002 | 28. II. 02 | l. | 8. IV. 02 |
| 116 | 0,03 | „ 02 | 0,00002 | „ | l. | 8. IV. 02 |
| 117 | 0,003 | „ 02 | 0,00002 | „ | l. | 8. IV. 02 |
| 118 | Kontrolltier | — 02 | 0,00002 | „ | † | 1. III. 02 |

1) Aronson, Berl. klin. Wochenschr. 1002. No. 42/43.

3.

Serum A. Opus II. Kultur wie bei Versuch I.
0,00000001 ccm töten eine Maus innerhalb zweier Tage.

| Journal-No. | Injizierte Serummenge ccm | Tag der Injektion | Injizierte Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang | Datum des Ausgangs |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 218 | 0,001 | 9. X. 1902 | 0,0000001 | 10. X. 1902 | l. | 25. XI. |
| 219 | 0,002 | „ | — | — | † | am 10. X. tot gefunden |
| 220 | 0,0005 | „ | 0,0000001 | 10. X. 1902 | l. | 25. XI. |
| 221 | 0,0004 | „ | 0,0000001 | „ | l. | 25. XI. |
| 222 | 0,0003 | „ | 0,0000001 | „ | l. | 25. XI. |
| 223 | 0,0002 | „ | 0,0000001 | „ | † | 14. X. |
| 224 | Kontrollmaus | = | 0,00000001 | „ | † | 13. X. |
| 225 | „ | = | 0,00000001 | „ | † | 14. X. |
| 226 | Kontrolltier | = | 0,00000001 | „ | † | 14. X. |

4.

Serum Aronson. Opus II. Kultur: Streptococcus aus Herzblut einer Scharlachleiche; durch 6malige Mäusepassage virulent gemacht.
(1 ccm —0,5—0,25—0,1—0,05—0,025.) 0,025 ccm Bouillonkultur tötet eine Maus in 2 Tagen.

| Journal-No. | Injizierte Serummenge ccm | Tag der Injektion | Injizierte Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 361 | 0,01 | 19. I. 03 | 0,05 | 20. I. 03 | † am II. 1903 |
| 362 | 0,005 | „ | 0,05 | „ | l. am II. 1903 |
| 263 | 0,001 | „ | 0,05 | „ | l. „ |
| 364 | 0,0005 | „ | 0,05 | „ | l. „ |
| 365 | 0,00025 | „ | 0,05 | „ | l. „ |
| 366 | 0,00010 | „ | 0,05 ungenau dosiert | „ | l. „ „ |
| 367 | 0,000 05 | „ | 0,05 | „ | l. „ |
| 325 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † am 22. I. 03 |
| 327 | „ | | 0,05 | „ | † „ |

5.

Serum Aronson. Opus II. Streptococcus wie in Versuch 1.
Tödliche Dosis 0,00000001 ccm innerhalb zweier Tage.

| Journal-No. | Injizierte Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 396 | 0,001 | 29. I. | 0,000001 | 30. I. 03 | l. am. 1. III. |
| 397 | 0,0005 | „ | 0,000001 | „ | l. „ |
| 398 | 0,0004 | „ | 0,000001 | „ | l. „ |
| 399 | 0,0003 | „ | 0,000001 | „ | l. „ |
| 400 | 0,0002 | „ | 0,000001 | „ | l. „ |
| 401 | Kontrolltier | „ | 0,000001 | „ | † am 31. I. |
| 402 | „ | „ | 0,0000001 | „ | † „ 1. II. |
| 403 | „ | „ | 0,00000001 | „ | † „ 1. II. |

6.

Serum Aronson. Opus III. Streptococcus wie in Versuch IV. Tödliche Dosis 0,025 ccm in 2 Tagen.

| Journal-No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 339 | 0,10 | 9. I. 03 | 0,05 | 10. I. 03 | lebt 18. I. 03 |
| 340 | 0,01 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 341 | 0,005 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 342 | 0,001 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 343 | 0,0001 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 344 | 0,0005 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 346 | 0,00005 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 345 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † 12. I. 03 |

7.

Serum Aronson Opus III. Kultur wie in Versuch 5.

| Journal-No. | Injizierte Serummenge . ccm | Tag der Injektion | Injizierte Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 368 | 0,01 | 19. I. 03 | 0,05 | 20. I. 03 | l. am 26. I. 03 |
| 369 | 0,005 | „ | 0,05 | „ | l. „ |
| 370 | 0,001 | „ | 0,05 | „ | l. „ |
| 371 | 0.0005 | „ | 0,05 | „ | † am 21. I. 03 |
| 372 | 0,00025 | „ | 0,05 | „ | lebt am 26. I. 03 |
| 373 | 0,0001 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 374 | 0,00005 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 325 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † am 22. I. 03 |
| 327 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † „ |

8.

Serum Aronson Opus III. Streptococcus gezüchtet aus Herzblut einer Scharlachleiche. Durch 6 Passagen virulent erhalten. (1 ccm —0,5—0,2—0,1—0,05—0,025 ccm.) Tödliche Dosis 0,025 ccm innerhalb 24 Stunden.

| Journal-No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 465 | 0,01 | 17. II. | 0,05 | 18. II. | lebt am 27. II. |
| 466 | 0,005 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 467 | 0,001 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 468 | 0,0005 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 469 | 0,0003 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 470 | 0,0001 | „ | 0,05 | „ | „ „ |
| 471 | 0,00005 | „ | 0,05 | „ | † am 19. II. |
| 472 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † „ „ |
| 473 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † „ „ |

9.

Serum Aronson. Opus III. Streptococcus wie in Versuch 1. 0,00000001 ccm töten eine Maus innerhalb zweier Tage.

| Journal-No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 485 | 0,001 | 27. II. 03 | 0,000001 | 29. II. 03 | lebt am |
| 486 | 0,0005 | „ | 0,000001 | „ | l. |
| 487 | 0,0004 | „ | 0,000001 | „ | l. |
| 488 | 0,0003 | „ | 0,000001 | „ | † 2. III. 1903 |
| 489 | 0,0002 | „ | 0,000001 | „ | † „ |
| 490 | 0,0001 | „ | 0,000001 | „ | † „ |
| 491 | Kontrolltier | | 0,0000001 | „ | † „ |
| 492 | Kontrolltier | | 0,0000001 | „ | † „ |

10.

Serum Roux aus dem Institut Pasteur. Streptococcus wie in Versuch 1.
Tödliche Dosis 0,000001 ccm innerhalb zweier Tage.

| Journal-No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 119 | 0,10 | 21. I. 02 | 0,000015 | 22. I. 02 | † am 26. I. 02 |
| 120 | 0,03 | „ | 0,000015 | „ | † „ 24. I. 02 |
| 121 | 0,01 | „ | 0,000015 | „ | † „ 28. I. 02 |
| 122 | Kontrolltier | | 0,000015 | „ | † „ 24. I. 02 |

11.

Serum Roux. Streptococcus wie in Versuch 4.
0,025 ccm töten eine Maus innerhalb zweier Tage.

| Journal-No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 329 | 0,1 | 19. I. 03 | 0,05 | 20. I. 03 | lebt am 21. II. |
| 328 | 0,05 | „ | 0,05 | „ | † |
| 330 | 0,01 | „ | 0,05 | „ | † |
| 331 | 0,005 | „ | 0,05 | „ | † |
| 332 | 0,001 | „ | 0,05 | „ | † |
| 333 | 0,0005 | „ | 0,05 | „ | † 23. I. 03 |
| 325 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † 22. I. 03 |
| 327 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † 22. I. 03 |

12.

Serum Roux. Streptococcus wie in Versuch 8.
Tödliche Dosis 0,025 ccm innerhalb 24 Stunden.

| Journal-No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 433 | 0,1 | 17. II. | 0,05 | 18. II. | † am 19. II. |
| 434 | 0,05 | „ | 0,05 | „ | † „ |
| 435 | 0,01 | „ | 0,05 | „ | † „ |
| 436 | 0,005 | „ | 0,05 | „ | † „ |
| 437 | 0,001 | „ | 0,05 | „ | † „ |
| 472 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † „ |
| 473 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † „ |

13.

Serum Tavel. Streptococcus wie in Versuch 4.
0,025 ccm töten innerhalb zweier Tage.

| Journal-No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 355 | 0,1 | 19. I. 02 | 0,05 | 20. I. 03 | lebt am 4. II. |
| 356 | 0,05 | „ | 0,05 | „ | † 26. I. 03 |
| 357 | 0,01 | „ | 0,05 | „ | † 26. I. 03 |
| 358 | 0,005 | „ | 0,05 | „ | † 24. I. 03 |
| 359 | 0,001 | „ | 0,05 | „ | † 24. I. 03 |
| 360 | 0,0005 | „ | 0,05 | „ | † 22. I. 03 |
| 325 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † 22. I. 03 |
| 327 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † 22. I. 03 |

14.

Serum Tavel. Streptococcus wie in Versuch 7.
0,00000001 ccm töten innerhalb zweier Tage.

| Journal-No. | Injizierte Serummenge ccm | Tag der Injektion | Injizierte Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 391 | 0,1 | 29. I. | 0,000 001 | 30. I. | † am 1. II. |
| 392 | 0,05 | „ | 0,000 001 | „ | † am 1. II. |
| 393 | 0,01 | „ | 0,000 001 | „ | † am 31. I. |
| 394 | 0,005 | „ | 0,000 001 | „ | † am 31. I. |
| 395 | 0,001 | „ | 0,000 001 | „ | † am 31. I. |
| 401 | Kontrolltier | | 0,000 001 | „ | † am 31. I. |
| 402 | Kontrolltier | | 0 000 001 | „ | † am 31. I. |
| 403 | Kontrolltier | | 0,000 000 01 | „ | † am 1. II. |

15.

Serum Tavel. Streptococcus wie in Versuch 8.
0,025 ccm töten innerhalb 24 Stunden.

| Journal-No. | Injizierte Serummenge ccm | Tag der Injektion | Injizierte Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 409 | 0,1 | 17. II. 03 | 0,05 | 18. II. | † am 19. II. |
| 410 | 0,05 | „ | 0,05 | „ | † „ |
| 411 | 0,01 | „ | 0,05 | „ | † „ |
| 412 | 0,005 | „ | 0,05 | „ | † „ |
| 413 | 0,001 | „ | 0,05 | „ | † „ |
| 414 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † „ |
| 415 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † „ |

16.

Serum Moser-Paltauf. Streptococcus wie in Versuch 4.
0,025 ccm töten eine Maus innerhalb zweier Tage.

| Journal-No. | Injiziertes Serum ccm | Tag der Injektion | Injizierte Kultur ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 349 | 0,1 | 19. I. 03 | 0,05 | 20. I. 03 | † 26. I. 03. |
| 350 | 0,05 | „ | 0,05 | „ | lebt am 1. II. 03 |
| 351 | 0,01 | „ | 0,05 | „ | l. „ |
| 352 | 0,005 | „ | 0,05 | „ | l. „ |
| 353 | 0,001 | „ | 0,05 | „ | l. „ |
| 354 | 0,0005 | „ | 0,05 | „ | l. „ |
| 325 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † 22. I. 03 |
| 327 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † 22. I. 03 |

17.

Serum Moser-Paltauf. Streptococcus wie Versuch 4.
0,00000001 ccm töten eine Maus innerhalb zweier Tage.

| Journal-No. | Injizierte Serummenge ccm | Tag der Injektion | Injizierte Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 386 | 0,1 | 29. I. | 0,000001 | 30. I. | lebt am 21. II. |
| 387 | 0,05 | „ | 0,000001 | „ | l. „ |
| 388 | 0,01 | „ | 0,000001 | „ | l. „ |
| 389 | 0,005 | „ | 0,000001 | „ | am 1. II. † |
| 390 | 0,001 | „ | 0,000001 | „ | am 1. II. † |
| 401 | Kontrolltier | | 0,000001 | „ | † am 31. I. |
| 402 | Kontrolltier | | 0,0000001 | „ | † am 31. I. |
| 403 | Kontrolltier | | 0,00000001 | „ | † am 1. II. |

18.

Antistreptococcusserum Moser-Paltauf. Streptokokkenstamm wie Versuch 8.

0,025 ccm töten eine Maus innerhalb 24 Stunden.

| Journal-No. | Injizierte Serummenge ccm | Tag der Injektion | Injizierte Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0,1 | 17. II. 03 | 0,05 | 19. II. 03 | lebt am 1. III. |
| | 0,05 | „ | 0,05 | „ | „ |
| | 0,01 | „ | 0,05 | „ | † am 19. II. |
| | 0,005 | „ | 0,05 | „ | † „ |
| | 0,001 | „ | 0,05 | „ | † „ |
| 417 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † „ |
| 418 | Kontrolltier | | 0,05 | „ | † „ |

Betrachtet man die Ergebnisse der Versuche, so zeigt sich zunächst eine Verschiedenheit in der Serumwirkung gegenüber hochvirulenten und weniger virulenten Streptokokkenstämmen. Gegen hochvirulente Stämme schützen die Sera von Roux und Tavel überhaupt nicht. Etwas anders verhält sich das Serum Moser-Paltauf (vergl. Tabelle 17). 0,01 ccm schützen[1]) gegen die Infektion mit der 100-fachen tödlichen Dosis eines hochvirulenten Streptokokkenstammes.

Im Gegensatz zu diesen 3 Seris schützte das Serum Aronson sicher selbst noch in Mengen von 0,0002 ccm gegen die 100-fache tödliche minimale Dosis (Tab. 5).

Bezeichnet man als Normalserum ein Serum, von dem 0,01 ccm gegen die 100-fache tödliche Dosis schützen[1]), so ist nach meinen Versuchen mit hochvirulenten Streptokokken das Serum von Aronson als ein 20—50-faches (Tab. 5 und 9), das von Moser als ein Normalserum zu bezeichnen.

Bei den Versuchen mit wenig virulenten Streptokokken, die nur eine geringe Anzahl von Tierpassagen durchgemacht hatten (höchstens 6), verhielten sich die Sera anders. Von Serum Tavel schützten 1mal (Tab. 13) 0,1 ccm gegen die 2-fache tödliche Dosis; sonst versagte dieses Serum stets. Genau so verhielt sich das Serum Roux. Beide Sera besitzen demnach gegen die Infektion mit Streptokokken, seien dieselben wenig- oder hochvirulent, im Tierversuch keinerlei Schutzwirkung.

Serum Moser-Paltauf verhielt sich den wenigvirulenten Kokken gegenüber in 2 Versuchsreihen verschieden: es schützten 1mal noch 0,0005 ccm gegen die Injektion mit einem Stamme, von dem innerhalb zweier Tage 0,025 ccm eine Maus töteten (Tab. 16).

Bei der zweiten Versuchsreihe, die mit einem Stamm angestellt wurde, von dem 0,025 ccm innerhalb 24 Stunden, 0,01 ccm innerhalb dreier Tage die Maus tötete (Tab. 18), vermochten 0,01 ccm Serum gegen die Infektion mit der doppelten (bezw. 5-fachen) tödlichen Dosis schon nicht mehr zu schützen, was dagegen mit 0,05 ccm Serum noch gelang.

Das Serum Aronson war auch in den Tierversuchen mit wenigvirulenten Streptokokken dem Wiener Serum weit überlegen.

Ich teile im Anschluß an die Beobachtungen mit Scharlach-Streptokokken eine Versuchsreihe mit, die ich Gelegenheit hatte anzustellen mit einem Streptococcus, den ich aus dem Pharynx eines an Ge-

1) Analog wie beim Schweinerotlaufserum.

lenkrheumatismus erkrankten Kindes gezüchtet und durch 6malige Mäusepassage virulent erhalten habe.

19.

Streptococcus (Gelenk) 0,025 ccm töten eine Maus in 24 Stunden, 0,01 innerhalb 3 Tagen.

Serum Roux.

| Journal-No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 438 | 0,1 | 17. II. 03 | 0,05 | 18. II. 03 | † 19. II. |
| 439 | 0,5 | " | 0,05 | " | " |
| 440 | 0,1 | " | 0,05 | " | " |
| 441 | 0,005 | " | 0,05 | " | " |
| 442 | 0,001 | " | 0,05 | " | " |
| 474 | Kontrolltier | | 0,05 | " | " |
| 475 | Kontrolltier | | 0,05 | " | " |

20.

Serum Tavel. Streptococcus wie in Versuch 19.

| Journal No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 450 | 0,1 | 17. II. 03 | 0,05 | 18. II. 03 | † 19. II. 03 |
| 451 | 0,05 | " | 0,05 | " | † " |
| 452 | 0,01 | " | 0,05 | " | † " |
| 453 | 0,005 | " | 0,05 | " | † " |
| 454 | 0,001 | " | 0,05 | " | † " |
| 474 | Kontrolltier | | 0,05 | " | † " |
| 475 | Kontrolltier | | 0,05 | " | † " |

21.

Serum Moser, Paltauf. Streptococcus wie in Versuch 20.

| Journal No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 459 | 0,01 | 17. II. 03 | 0,05 | 18. II. 03 | l. am 27. II. 03 |
| 460 | 0,005 | " | 0,05 | " | l. " |
| 461 | 0,001 | " | 0,05 | " | l. " |
| 462 | 0,0005 | " | 0,05 | " | † 19. II. 03 |
| 463 | 0,0004 | " | 0,05 | " | † " |
| 464 | 0,0002 | " | 0,05 | " | † " |
| 474 | Kontrolltier | | 0,05 | " | † " |
| 475 | Kontrolltier | | 0,05 | " | † " |

22.

Serum Aronson Opus III. Streptococcus wie in Versuch 21.

| Journal No. | Serummenge ccm | Tag der Injektion | Kulturmenge ccm | Tag der Injektion | Ausgang |
|---|---|---|---|---|---|
| 476 | 0,01 | 17. II. 03 | 0,05 | 18. II. 03 | lebt am 27. II. 03 |
| 477 | 0,005 | " | 0,05 | " | l. " |
| 478 | 0,001 | " | 0,05 | " | l. " |
| 479 | 0,0005 | " | 0,05 | " | l. " |
| 480 | 0,0003 | " | 0,05 | " | l. " |
| 481 | 0,0001 | " | 0,05 | " | l. " |
| 482 | 0,00005 | " | 0,05 | " | l. " |
| 474 | Kontrolltier | | 0,05 | " | † 19. II. 03 |
| 475 | Kontrolltier | | 0,05 | " | † " |

Aus der einen Versuchsreihe geht hervor, daß dieser vom Gelenkrheumatismus stammende Streptococcus nach einer 6maligen Mäusepassage sich gegen die Sera völlig so verhielt wie die aus Scharlachfällen gezüchteten Kokken, und zwar gegen Sera, die wie das Aronsonsche und das Mosersche gewonnen wurden aus Scharlachstreptokokken. Es liegt mir natürlich fern, aus einem einzelnen Versuche Schlüsse ziehen zu wollen, zumal ich noch nicht weiß, wie sich mein Coccus nach erlangter hoher Virulenz verhalten wird; immerhin kann man aus diesem Versuche ersehen, daß mit Hilfe des Immunisierungsversuches ein Unterschied zwischen den Streptokokken des Scharlachs und denen des Gelenkrheumatismus sich vorläufig nicht finden ließ.

Die zu den beschriebenen Versuchen benutzten Streptokokkenstämme wurden, wie mehrfach erwähnt, aus dem Herzblute bezw. dem Knochenmarke an Scharlach gestorbener Kinder gezüchtet. Es zeigt sich hierbei, daß das Blutserum den Kokken gegenüber keine nennenswerten bakteriziden Eigenschaften besitzt, wie dies z. B. beim Typhusbacillus der Fall ist; bekanntlich gelingt die Züchtung dieses Mikroben aus Blut nur bei Einsaat in eine größere Menge von Bouillon, so daß durch starke Verdünnung die bakterizide Wirkung des Blutserums aufgehoben wird. Anders beim Streptococcus. Ich habe verschiedene Male folgenden Versuch gemacht. In je 5—10 ccm Bouillon — auf der notorisch Streptokokken gut fortkamen — wurden einige Tropfen, 1 ccm, 2 ccm, 5 ccm (und darüber) Blut, das mit steriler Spritze kurz nach dem Tode dem Herzen entnommen war, eingesät: in allen Röhrchen waren nach 24 Stunden reichlich Streptokokken gewachsen. Daß das Wachstum der Kokken in flüssigen Nährmedien ein äußerst verschiedenes ist und von Zufälligkeiten bezw. Ursachen abhängt, die außerhalb unserer Berechnung liegen, hat jüngst Aronson[1]) hervorgehoben. Ich kann mich seinen Beobachtungen in dieser Hinsicht völlig anschließen, namentlich bezüglich der kurzen und langen Ketten, der Säurebildung u. s. w. Als besonders drastisch möchte ich erwähnen, daß ein Stamm, der, über ein Jahr fortgezüchtet, stets die Bouillon diffus trübte und seit Monaten in ganz kurzen Ketten wuchs, seit zwei Generationen völlig „agglutiniert“ wächst unter Bildung hervorragend schöner und langer Ketten.

Zur Erzielung virulenter Stämme benutzte ich, wie erwähnt, die intraabdominale Impfung, die von Aronson[2]) empfohlen wird, Ich habe mit derselben eine ganze Anzahl von Streptokokkenstämmen geprüft von Scharlach, Polyarthritis, Diphtherie, Angina, Empyem, Pericarditis, Enteritis und Phthisis — und stets positive Erfolge erzielt. Es wurde 1 ccm der gut gewachsenen 24-stündigen Bouillonkultur oder, wenn dies ausnahmsweise nicht zum Ziele führte, der Bodensatz einer solchen Kultur injiziert. Von 3—5 auf diese Weise behandelten weißen Mäusen waren stets einige innerhalb zweier Tage tot; aus dem Herzblute wurden die Kokken mit Leichtigkeit durch direkte Impfung in Bouillon in Reinkultur erhalten und zur weiteren Passage verwandt. Die Erhöhung der Virulenz ging aber zuweilen, auch bei Anwendung vorzüglicher Bouillon, nur sehr langsam vor sich, so daß z. B. einmal 10 Passagen nötig waren, um einen Streptococcus von Gelenrheumatismus auf die tödliche Dosis von 0,025 ccm zu bringen. Daß meine

1) Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 42/43.
2) l. c.

für Mäuse virulenten Kokken nicht immer in gleicher Weise gegen Kaninchen wirkten, beweist folgender Versuch: Maus durch 0,025 ccm Bouillonkultur in 2 Tagen getötet. Herzblut auf Bouillon, von dieser nach 24-stündigem Wachstume 1 ccm einem Kaninchen von 800 g subkutan (11. I.). Da das Tier am nächsten Tage völlig munter, einem zweiten Kaninchen von derselben Kultur (nun 48 Stunden alt) 6 ccm subkutan; starke Abmagerung, Tod nach 10 Tagen (21. I.), im Herzblute Reinkultur von Streptokokken: von dieser Kaninchenkultur töten 0,025 eine Maus innerhalb zweier Tage. Es war also, während die tödliche Dosis für Mäuse unverändert geblieben war, die zur Tötung des Kaninchens erforderliche fast 300mal größer. Nach den Anschauungen von Tavel, denen sich auch Paltauf und Moser und F. Meyer anschließen, gehen den Streptokokken durch häufige Tierpassagen spezifische Eigenschaften verloren; und in der That verhalten sich meine hochvirulenten Kokken gegenüber dem Serum Moser etwas anders wie die durch nur 6 Passagen virulent gemachten Kulturen. Ich bin zur Zeit damit beschäftigt, Streptokokken von Scharlach und Polyarthritis stammend, die durch wenige Mäuse-, Kaninchen- und Meerschweinchenpassagen virulent erhalten werden, auf ihre Wirkung gegen die verschiedenen Antistreptokokkensera zu prüfen und zu versuchen, ob die betreffenden Stämme sich dann untereinander verschieden verhalten.

Herrn Prof. Dr. A. Baginsky, meinem sehr verehrten Chef, danke ich auch an dieser Stelle für das stete Interesse, das er diesen Versuchen entgegenbrachte, auf das wärmste.

---



# Ueber die agglutinierende Eigenschaft der Galle.

[Aus dem Laboratorium der II. med. Klinik zu Neapel. Direktor Prof. A. Cardarelli.]

Von Dr. **Arnold Cantani** jun., Privatdozent und Präparator.

Nach der epochemachenden Entdeckung von Robert Koch über die schützende Wirkung der Galle von den an Rinderpest eingegangenen Tieren sind die Studien über das Verhalten der Galle bei anderen Infektionen nicht sehr weit vorgeschritten. Und doch bieten diese Forschungen ein sehr großes Interesse, indem sie eine Aufklärung über die Frage der antitoxischen und bakteriziden Funktion der Leber geben können, die von vielen Autoren angenommen wird.

Durch die Kochsche Entdeckung haben daher die Studien über den Wert der Leberfunktion wieder an Interesse gewonnen, und dieses Mal wurde der Galle eine große Beachtung geschenkt, über deren so komplizierte Funktion noch nicht Alles klargestellt worden ist. Von vielen Seiten wurde über eine antitoxische und baktericide Wirkung seitens normaler Galle berichtet. Nach den letzten Forschungen aber (Fraenkel und Krause, Mosse, Leubuscher etc.) scheint es in unzweideutiger Weise festgestellt zu sein, daß der Galle fäulniswidrige Eigenschaften gar nicht zukommen, und daß sie für viele Bakterien einen guten Nährboden darstellen kann (Myake Italia etc.). Nur von

Neufeld[1]) wurde letztens eine sehr schön ausgeprägte bakteriolytische Wirkung auf Fraenkelsche Diplokokken seitens normaler Galle entdeckt.

Ueber die Schutzwirkung der Galle von Tieren, die an einer Infektion eingegangen sind, sind die Arbeiten nicht sehr zahlreich (Vincenti, Frantzius, Vallée). Aus den bis jetzt erhaltenen Resultaten scheinen der Galle keine gegen Tollwut und Tetanus schützende Eigenschaften zuzukommen. Ich will auch hier an die Experimente, die über die antitoxische Wirkung der Galle gegen Schlangengift (Fraser, Wehrmann) mit oft sehr guten Resultaten angestellt wurden, kurz erinnern.

Und wenn die Studien über das Verhalten der Galle bei den verschiedenen Infektionen sehr spärlich sind, so wurde auch die Galle von immunisierten Tieren sehr wenig erforscht. Indem ich hierüber einige Experimente anstellte, von welchen ein kleiner Teil in meiner letzten Abhandlung über Immunisierungsversuche gegen Influenza[2]) veröffentlicht wurde, fand ich, daß es nicht ohne Interesse sein würde, auch die agglutinierende Wirkung der Galle einer methodischen Untersuchung zu unterwerfen. Die Studien über dieses Thema sind in der Tat nicht sehr weit vorgeschritten, denn in der Literaturübersicht findet man wenige Angaben über eine solche Eigenschaft der Galle.

Von Widal und Sicard[3]) wurde nämlich die Galle bei 2 Typhusleichen studiert und nur bei einer derselben eine schwache Agglutination bemerkt. Courmont[4]), der auch bei 3 Typhussektionen die agglutinierende Eigenschaft der Galle studieren konnte, fand, daß dieselbe sehr selten ist; Arloing[5]) konnte bei Gelegenheit seiner Untersuchungen über die Peripneumonie der Rinder eine nicht sehr starke Agglutination in der Galle nachweisen.

Nähere Angaben fehlen, so viel ich weiß, vollständig; ich glaube daher, daß es nicht ohne Interesse sein würde, die Untersuchungen zu veröffentlichen, die ich über dieses Thema angestellt habe.

Da die Galle auf die meisten Bakterien, und besonders auf Typhus und Coli, keine schädigende Eigenschaft ausübt, so verliefen, was dies anbelangt, meine Experimente ohne bedeutende Schwierigkeiten. Ich zog es auch vor, mit Typhus und Coli zu arbeiten, weil die Agglutinationsbedingungen gerade bei diesen Bakterien am besten bekannt sind. Es wurde ferner auch die agglutinierende Wirkung der Galle auf die Influenzabacillen untersucht, da ich schon mehrmals Gelegenheit gehabt hatte, mit diesen Bakterien agglutinierende Untersuchungen anzustellen.

Vor allem aber drängte sich die Frage auf, ob auch normale Galle imstande ist, eine agglutinierende Wirkung auf Bakterien auszuüben. Ich stellte zu diesem Zwecke zahlreiche Kontrolversuche mit verschiedenen Bakterien (Typhus, Coli, Streptokokken, Staphylokokken, Influenza, Diphtheritis) an, aus deren Resultaten ich mich überzeugen konnte, daß normale Ochsengalle, sowie Kaninchen- oder Meerschweinchengalle nicht imstande ist, die obengenannten Bakterien zu agglutinieren; auch mit Hundegalle stellte ich einige Experimente an. Letztere, die oft ziemlich

1) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskr. Bd. XXXIV.
2) Ebenda. Bd. XLII.
3) Presse méd. 1896. No. 80.
4) Société de biologie. 30, II. 1897.
5) Ebenda. 30, I. 1897.

stark mucinhaltig ist, kann hie und da eine sehr schwache agglutinierende Wirkung einigen Bakterien gegenüber ausüben (Influenza, Typhus), die aber die Diluitionen von 1:10—1:25 nie überschreiten. In der Regel, wenn die Galle klar und dünnflüssig war und sich mit der zugesetzten Flüssigkeit gleichmäßig mischte, zeigte sich keine Agglutination; nur jene Gallearten, die zähflüssig und trübe aussahen, zeigten manchmal eine schwache Agglutination, die sehr wahrscheinlich dem höheren Gehalte an Mucin zuzuschreiben ist.

Bemerkenswert war noch bei diesen Experimenten eine leichte Aufklärung, die ich in den Aufschwemmungen von Influenzabacillen bei Zusatz von Galle zu beobachten Gelegenheit hatte. Hier aber handelte es sich nicht um eine bakteriolytische Wirkung seitens der Galle auf die Influenzabacillen, derjenigen ähnlich, die von Neufeld bei Diplokokken beobachtet wurde; der Zusatz von Galle war nicht im stande, die Influenzabacillen zu lösen; ich konnte auch nach 48 Stunden aus diesen Proben die Influenzabacillen herauszüchten und bemerkte nur in den aus diesen Gallemischungen angefertigten Präparaten eine Verkürzung der schon an sich selbst so kurzen Stäbchen, die wie kleine Kokken aussahen. Auch der Zusatz von Galle zu den üblichen Nährböden war nicht imstande, das Wachstum der Influenzabacillen zu verhindern, was ich übrigens schon bei anderer Gelegenheit betont habe[1]).

In der nachstehenden Tabelle werden diese Experimente der Kürze wegen zusammengruppiert:

Tabelle I.

Beispiel für das Agglutinierungsvermögen von normaler Galle auf verschiedene Bakterien.

| Tier, welches die Galle lieferte | | Agglutinationsprobe | | | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tier | Gewicht in g | Bakterienart | Proportion | Nach 20 Min. | Nach 2 Std. | Nach 4 Std. | Nach 24 Std. | |
| Hund | 8000 | Influenza | 1:10 | 0 | + | + | +++ | Das Optimum |
| " | | " | 1:25 | 0 | 0 | + | +++ | wird mit |
| " | | " | 1:50 | 0 | 0 | 0 | 0 | ++++ be- |
| " | " | Typhus | 1:10 | 0 | 0 | 0 | ++ | zeichnet. |
| | | | 1:25 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | " | Coli | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Meerschweinchen | 300 | Influenza | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | 450 | Typhus | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | " | Coli | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Ochsengalle | | Influenza | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | | Typhus | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | | Coli | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | | Strept. | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | | Staph. | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | | Diphtherie | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Kaninchen | 2000 | Influenza | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | | Typhus | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| " | | Coli | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

Ich ging nun weiter, indem ich einige Experimente mit der Galle von Tieren anstellte, die mit einer einzigen Bakterieninjektion behandelt

1) Ueber das Wachstum der Influenzabacillen auf hämoglobinfreien Nährböden. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskr. Bd. XXXVI.)

waren; diese Versuche wurden, wie gesagt, mit Typhus-, Coli- und Influenzabacillen ausgeführt. Falls die Tiere infolge der Injektion eingingen, wurde die Galle in steriler Weise mittelst Aufsaugung aus der Gallenblase mit einer sterilen Spritze sobald als möglich nach dem Tode der Tiere extrahiert. Wenn die Injektion nicht tödlich war, tötete man die Tiere verschiedene Zeit nach der Einspritzung. Es wurde auch darauf geachtet, die Tiere immer in nüchternem Zustande zu töten, um eine größere Menge von Galle erhalten zu können. Bei diesen Untersuchungen achtete ich sehr darauf, die Bedingungen von meinen Experimenten so viel als möglich zu wechseln. Ich injizierte daher nicht zu große Mengen von Bakterien, um aus der Gallenblase der eingegangenen Tiere eine so wenig als möglich veränderte Galle zu gewinnen, denn wenn ich oft zu große Mengen von Typhus oder Coli den Tieren interperitoneal injizierte, waren die Veränderungen in der Leber so tiefgreifend, daß ich die Gallenblase ganz leer fand, oft war die Galle stark hämorrhagisch und trübe und ergab, auf Agar geimpft, zahlreiche Kolonieen von Typhus oder Coli. Wie es selbstverständlich ist, konnte ich von diesen so veränderten Gallenproben nur wenig erwarten, ich versuchte daher bei der Fortsetzung meiner Experimente, nur solche Mengen von den obengenannten Bakterien den Tieren zu injizieren, die sich der minimal tödlichen Dosis näherten, ohne aber den Tod der Tiere hervorzurufen.

Bei den intraperitonealen Einspritzungen von Influenza konnte ich im Gegenteil sehr oft bedeutende Mengen von Galle, je nach der Größe der Tiere, erhalten. Bei der großen Hyperämie, die die Einspritzung von Influenza bei den Tieren in der Leber hervorruft, wird nämlich die Absonderung der Galle stark vermehrt, sodaß man sehr oft auch bei der Einspritzung von mehrfach tödlichen Dosen von Influenza die Gallenblase stark aufgebläht findet. Nicht selten konnte ich bei einem mittelgroßen Meerschweinchen von 400 g bis zu 1 ccm Galle extrahieren.

Bei allen diesen Experimenten übte der Ort der Impfung keine besondere Wirkung aus; auch die verschiedenen Grade in der Virulenz der injizierten Mikroben waren ohne Einfluß auf die Resultate der Versuche.

Für die Agglutinationsprüfung habe ich 20-stündige Bouillonkulturen von Typhus und Coli angewendet. Bei den Agglutinationsversuchen, die ich mit Influenza anstellte, wurde ich gezwungen, Kulturen auf festen Nährböden zu gebrauchen, da die Kulturen von Influenza auf Blutbouillon wegen der Undurchsichtigkeit des Nährmediums ganz unpassend waren. Ich benutzte daher, um jede Beimischung von den Influenzabacillen mit Blut zu vermeiden, Blutagarkulturen, die nach der Vogesschen Anweisung bereitet wurden. Die Aufschwemmungen wurden in steriler physiologischer Kochsalzlösung in der Proportion von 2 Normalösen von einer 20-stündigen Kultur in 10 ccm Wasser ausgeführt. Die Influenzabacillen blieben in dieser Weise sehr lange Zeit suspendiert und bildeten eine opaleszierende Flüssigkeit, die sich für meine Zwecke sehr gut bewährt hat.

Die Beurteilung der Agglutinierungsproben wurde immer makroskopisch ausgeführt und die mikroskopische Untersuchung nur dann angewendet, wenn man die schon erhaltenen Resultate kontrolieren wollte; die Agglutinationswerte sind daher in den folgenden Tabellen etwas niedriger geschätzt worden als in der Tat; da aber diese Werte nur

der makroskopischen Beobachtung entsprechen, so sind sie auch als unzweifelhafte zu bezeichnen.

In den nächsten Tabellen II und III werden die Experimente vorgeführt, die mit der Galle von Tieren angestellt wurden, die mit einer einzigen Einspritzung von Bakterien vorbehandelt wurden; in der Tabelle II werden die Tiere zusammengruppiert, die an der künstlichen Infektion mit Typhus, Coli und Influenza eingegangen sind; in der Tabelle III die Tiere, die einer einzigen Injektion widerstanden haben.

Tabelle II.
Beispiel für die agglutinierende Wirkung der Galle von Tieren, die an einer Infektion eingegangen sind.

| Tier, welches die Galle lieferte | | | | | Agglutinationsversuche | | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| No. | Gattung | Gewicht | Vorbehandlung | Verlauf und Autopsie | Proportion | Nach 20 Min. | Nach 2 Std. | Nach 4 Std. | Nach 24 Std. | |
| 772 | Kan. | 1 700 | Vorbehandelt mit 7 ster. Kulturen von Influenza subkutan | Stirbt 7 Tage später, Kulturen steril | 1:10<br>1:20 | 0<br>0 | 0<br>0 | +<br>0 | ++<br>0 | Optimum = ++++ |
| 783 | Meersch. | 525 | vorbehandelt mit 3 ster. Kulturen von Influenza subkutan | stirbt nach 4 Tagen, Organe steril | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 785 | „ | 430 | dieselbe Vorbehandlung | stirbt nach 2 Tagen, Kulturen steril | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 766 | „ | 350 | vorbehandelt mit 6 ster. Kulturen von Influenza subkutan | stirbt in 20 Std., Kulturen steril | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 1027 | Kan. | 1 600 | vorbehandelt mit 3 Oesen einer Typhuskultur intraperitoneal | stirbt in 48 Std., Galle steril | 1:5<br>1:10 | 0<br>0 | 0<br>0 | 0<br>0 | 0<br>0 | |
| 1188 | Hund | 10 500 | vorbehandelt mit 5 ster. Agarkulturen von Coli intraperitoneal | stirbt 9 Tage später, Galle steril | 1:10<br>1:50<br>1:100 | +++<br>+<br>0 | ++++<br>++<br>0 | ++++<br>++<br>+ | ++++<br>++++<br>++ | |

Wie hieraus ersichtlich, fielen die Experimente, die mit der Galle von den gestorbenen Tieren angestellt wurden, fast immer negativ aus. Nur bei denjenigen Tieren, die mit größeren Dosen von Bakterien injiziert worden waren und nicht gleich nach der Einspritzung zu Grunde gingen, sondern einige Tage überlebten, konnte man eine Andeutung von Agglutination bemerken.

Auch bei den Tieren, die einer einzigen Einspritzung widerstanden hatten, waren die Resultate nicht sehr günstig; die meisten Tiere lieferten eine ganz und gar wirkungslose Galle, nur hie und da konnte man

Tabelle III.
Beispiel für die agglutinierende Wirkung der Galle von Tieren, die einer einzigen Injektion von Bakterien widerstanden haben.

| Tier, welches die Galle geliefert hat | | | | | Agglutinationsversuche | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| No. | Gattung | Gewicht | Vorbehandlung | Zeit der Entblutung | Proportion | Nach 20 Min. | Nach 2 Std. | Nach 4 Std. | Nach 24 Std | Bemerkungen |
| 762 | Kaninch. | 1 700 | Vorbehandelt mit einer einzigen Einspr. von 3 Kulturen von Influenza subkutan | Wird 2 Tage später entblutet | 1:10<br>1:20 | 0<br>0 | 0<br>0 | 0<br>0 | 0<br>0 | Optimum = ++++ |
| 763 | Meersch. | 630 | dieselbe Vorbehandlung | desgl. | 1:10<br>1:20 | 0<br>0 | +<br>0 | ++<br>+ | ++<br>++ | |
| 767 | Kaninch. | 1 930 | vorbehandelt mit einer einzigen Einspr. von 5 ster. Kultureu von Influenza subkutan | wird 3 Tage später getötet | 1:10<br>1:20 | 0<br>0 | 0<br>0 | +<br>0 | ++<br>0 | |
| 782 | Meersch. | 290 | vorbehandelt mit 3 ster. Kulturen von Influenza subkutan | entblutet nach 5 Tagen | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 786 | Kaninch. | 2 180 | Subkutan 5 ster. Kulturen von Influenza | entblutet 7 Tage später | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 770 | Meersch. | 345 | Subkutan 3 ster. Kulturen von Influenza | entblutet 8 Tage später | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 1268 | Hund | 10 500 | vorbehandelt mit 50 Agarkulturen von Influenza intraperitoneal | wird 5 Tage später getötet | 1:25<br>1:50<br>1:100 | +<br>0<br>0 | ++<br>0<br>0 | +++<br>0<br>0 | ++++<br>0<br>0 | |
| 768 | Kaninch. | 1 800 | vorbehandelt mit einer Einspr. von 1 Agarkultur von Typhus subkutan | wird 2 Tage später entblutet | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 1037 | „ | 2 200 | vorbehandelt intraper. mit 8 ccm ster. Typhusbouillon | desgl. | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 1560 | „ | 1 200 | vorbehandelt mit 2 ccm ster. Typhusbouillon subkutan | wird 5 Tage später entblutet | 1:10<br>1:50 | +<br>0 | +<br>0 | +++<br>0 | ++++<br>0 | |
| 1561 | „ | 1 250 | vorbehandelt mit 2 ster. Colibouillon subkutan | wird 5 Tage später entblutet | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 771 | „ | 1 600 | vorbehandelt mit 1 ster. Agarkultur von Coli intraper. | entblutet nach 5 Tagen | 1:10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 1280 | Meersch. | 300 | vorbehandelt mit 10 ster. Agarkulturen von Influenza intraperitoneal | entblutet nach 3 Tagen | 1:10<br>1:20<br>1:40<br>1:100 | +<br>+<br>0<br>0 | ++<br>++<br>+<br>0 | +++<br>+++<br>++<br>0 | ++++<br>++++<br>+++<br>0 | |

einige Zeichen von spät eingetretener Agglutination wahrnehmen. Die Einspritzungen von kleineren Dosen von Bakterien erwiesen sich bei dieser Gelegenheit als ganz unwirksam; höhere Kulturmengen waren vielleicht etwas aktiver. So konnte man in der Galle vom Hund 1268, welcher intraperitoneal mit der beträchtlichen Menge von 50 Influenzakulturen vorbehandelt wurde, eine Erhöhung der sonst schon normal auftretenden Agglutinierungsfähigkeit seitens der Galle wahrnehmen. Bei Meerschweinchen 1280, welches die Einspritzung von 10 Influenzakulturen wegen aktiver Immunisierung gut überstanden hatte, konnte man in der Galle ein ziemlich hohes Agglutinierungsvermögen wahrnehmen; die Agglutination war bei diesem Tiere auch in der Proportion von 1:40 positiv. Auch die Galle von einem mit Typhus vorbehandelten Kaninchen (1560) gab positive Resultate in der übrigens sehr geringen Diluition von 1:10.

Wie verhält sich nun die Galle von den Tieren, die einem längeren oder kürzeren Immunisierungsprozesse unterworfen werden? Auch in dieser Richtung wurden von mir zahlreiche Untersuchungen angestellt, und dieses Mal mit weit besseren Resultaten, als es bis jetzt der Fall gewesen war. Ich konnte nämlich schon bei einer nicht sehr hoch getriebenen Immunisierung in der Galle von den immunisierten Tieren eine sehr ausgeprägte Agglutinationsfähigkeit nachweisen, die sich in konstanter Weise in den verschiedenen Galleproben entdecken ließ. In der nächsten Tabelle (IV) werden, der Kürze wegen, einige von diesen Experimenten vorgeführt.

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich, besitzt die Galle von den immunisierten Tieren ein ziemlich hohes Agglutinationsvermögen gegenüber denselben Bakterien, mit welchen die Tiere vorbehandelt wurden. Bei den mit Typhus vorbehandelten Kaninchen konnte ich in der Tat Agglutinationswerte bis zu 1:200 erreichen. Ebenfalls geschah dies bei den mit Coli immunisierten Tieren; bei denen, die mit Influenza vorbehandelt wurden, konnte ich ähnliche Resultate erreichen. Es ist aber hier zu bemerken, daß, wenn auch das Agglutinationsvermögen bei diesen hier aufgeführten Experimenten einen nicht sehr hohen Grad erreicht hat, die Immunisierung der Tiere auch nicht bedeutend hoch getrieben wurde.

Die Spezifität des von mir beobachteten Agglutinationsvermögens wurde durch verschiedene Experimente bewiesen, die ich mit der Galle von einem gegen Typhus immunisierten Kaninchen auf die Coli- und Influenzabacillen mit immer negativem Resultate anstellte.

Bei den von mir angestellten Experimenten habe ich auch nicht versäumt, die Agglutinationsverhältnisse im Serum derselben Tiere zu erforschen, bei welchen die Galle untersucht wurde, um die Resultate der beiden Untersuchungen vergleichen zu können. In der Tabelle V werden einige von diesen Experimenten wiedergeben.

Wie zu erwarten war, besaß das Serum immer eine viel höhere Agglutinationsfähigkeit, als die Galle von demselben Tiere. Bei einigen Tieren wirkte das Serum bis zu 1:5000 agglutinierend, während die Galle höchstens die Werte von 1:200 erreichte. Und wenn das Serum ein sehr niedriges Agglutinationsvermögen besaß, zeigte sich die Galle bei denselben Tieren ganz wirkungslos.

Ueber die hämolytischen und agglutinierenden Eigenschaften der Galle von den Tieren, die mit Blut von anderen Tiergattungen immunisiert wurden, stellte ich auch bei Gelegenheit meiner Untersuchungen

Tabelle IV.

Beispiel für die agglutinierende Wirkung von Galle, die aus Tieren stammt, die gegen Typhus, Coli und Influenza immunisiert wurden.

| Tier, welches die Galle geliefert hat | | | | | Agglutinationsversuche | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| No. | Tier | Gewicht | Vorbehandlung | Zeit der Entblutung | Proportion | Nach 20 Minut. | Nach 2 Std. | Nach 4 Std. | Nach 24 Std. | Bemerkungen |
| 1042 | Kaninch. | 2 320 | Vorbehandelt m. 37 ster. Agarkulturen von Typh. im Laufe von 2 Monaten | Stirbt 4 Tage nach der letzten Einspritz. von 20 Kulturen | 1 : 10 | ++ | +++ | ++++ | ++++ | Das Optimum wird mit ++++ bezeichnet. Leichte Flöckch.-Bildung = +. Größere Flöckch.-Bildg. = +++. Aufklärg. der Flüssigkeit = ++++. |
| | | | | | 1 : 50 | ++ | +++ | ++++ | ++++ | |
| | | | | | 1 : 100 | + | ++ | +++ | ++++ | |
| 1505 | „ | 1 900 | vorbehandelt mit 24 ccm Typhusbouillon intraperit. im Laufe von 6 Tagen | entblutet 7 Tg. nach der letzten Einspritz. | 1 : 50 | ++ | ++ | +++ | ++++ | |
| | | | | | 1 : 100 | + | ++ | +++ | ++++ | |
| | | | | | 1 : 200 | 0 | + | + | ++ | |
| 1498 | „ | 1 850 | vorbehandelt mit 39 ccm ster. Typhusbouillon intraperitoneal in 9 Tagen | desgl. | 1 : 50 | + | ++ | +++ | ++++ | |
| | | | | | 1 : 100 | 0 | + | ++ | ++++ | |
| | | | | | 1 : 200 | 0 | + | ++ | ++ | |
| 1187 | Hund | 8 400 | vorbehandelt mit 88 ccm Typhusbouillon in 50 Tagen intraper. | desgl. | 1 : 50 | ++ | +++ | ++++ | ++++ | |
| | | | | | 1 : 100 | 0 | + | ++ | +++ | |
| | | | | | 1 : 200 | 0 | + | + | ++ | |
| 1188 | „ | 8 000 | vorbehandelt mit 40 ccm ster. Coli-Bouillon intrap. in 50 Tagen | desgl. | 1 : 50 | ++ | +++ | ++++ | ++++ | |
| | | | | | 1 : 100 | + | + | ++ | ++++ | |
| | | | | | 1 : 200 | 0 | + | ++ | +++ | |
| 600 | Meersch. | 480 | vorbehandelt mit 75 ster. Kultur. von Influenza subkutan im Laufe von 2 Monaten. Letzte Einspritzung 30 sterile Kulturen | entblutet nach 7 Tagen | 1 : 20 | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | |
| | | | | | 1 : 50 | ++ | +++ | +++ | ++++ | |
| | | | | | 1 : 100 | 0 | + | + | ++ | |
| 1090 | Hund | 10 000 | verbehandelt mit 229 ster. Kulturen v. Influenza | desgl. | 1 : 50 | + | ++ | +++ | ++++ | |
| | | | | | 1 : 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | | | | 1 : 200 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

mit Bakterien einige Experimente an. Die Resultate waren, im ganzen genommen, dieselben wie diejenigen, die ich schon mit Bakterien erhalten hatte. Ueber die Einzelheiten dieser Versuche, die noch nicht alle zu Ende gebracht worden sind, wird hoffentlich in nächster Zeit referiert werden.

---

Tabelle V.
Beispiel für die agglutinierende Wirkung von Galle und Serum bei denselben Tieren in vergleichender Weise dargestellt.

| No. | Tier | Gewicht | Vorbehandlung | Agglutinationsversuche mit Serum | | | | | Agglutinationsversuche mit Galle | | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Höchste Dilution | Nach 20 Minut. | Nach 2 Stdn. | Nach 4 Stdn. | Nach 24 Stdn. | Höchste Dilution | Nach 20 Minut. | Nach 2 Stdn. | Nach 4 Stdn. | Nach 24 Stdn. | |
| 768 | Kaninchen | 1 800 | Vorbehandelt mit 1 Typhuskultur | 1 : 200 | + | + + | + + | + + + | 1 : 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | Das Optimum wird mit + + + + bezeichnet. |
| 1561 | „ | 1 900 | vorbehandelt mit 2 ccm steriler Coli-Bouillon | 1 : 100 | + | + + | + + + | + + + + | 1 : 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 767 | „ | 1 800 | vorbehandelt mit 5 sterilen Kulturen von Influenza | 1 : 50 | 0 | 0 | + | + + | 1 : 10 | 0 | 0 | + | + + | |
| 1505 | „ | 1 900 | vorbehandelt mit 24 ccm Typhusbouillon in 6 Tagen | 1 : 1000 | 0 | + | + + | + + + + | 1 : 100<br>1 : 200 | +<br>0 | + +<br>+ | + + +<br>+ | + + + +<br>+ + | |
| 1498 | „ | 1 850 | vorbehandelt mit 39 ccm Typhusbouillon in 9 Tagen | 1 : 1000<br>1 : 5000 | + +<br>+ | + + +<br>+ | + + + +<br>+ + | + + + +<br>+ + + | 1 : 100<br>1 : 200 | 0<br>0 | +<br>+ | + +<br>+ + | + + + +<br>+ + + | |
| 1187 | Hund | 8 400 | vorbehandelt mit 88 ccm Typhusbouillon in 50 Tagen | 1 : 1000<br>1 : 5000 | +<br>0 | + +<br>+ | + + +<br>+ + | + + + +<br>+ + + | 1 : 100<br>1 : 200 | 0<br>0 | +<br>+ | + +<br>+ | + + +<br>+ + | |
| 1188 | „ | 8 000 | vorbehandelt mit 40 ccm steriler Coli-Bouillon in 50 Tagen | 1 : 1000<br>1 : 2000 | 0<br>0 | +<br>+ | + +<br>+ + | + + + +<br>+ + + | 1 : 100<br>1 : 200 | +<br>0 | +<br>+ | + +<br>+ + | + + + +<br>+ + + | |
| 600 | Meerschw. | 480 | vorbehandelt mit 75 sterilen Kulturen von Influenza | 1 : 50<br>1 : 100 | + +<br>+ | + + +<br>+ | + + + +<br>+ | + + + +<br>+ + | 1 : 50<br>1 : 100 | + +<br>0 | + + +<br>+ | + + +<br>+ + | + + + +<br>+ + | |
| 1090 | Hund | 10 000 | vorbehandelt mit 229 Influenzakulturen | 1 : 500<br>1 : 1000 | + +<br>+ | + + +<br>+ + | + + + +<br>+ + + | + + + +<br>+ + + + | 1 : 100<br>1 : 200 | +<br>0 | + +<br>+ + | + + +<br>+ + + | + + + +<br>+ + + | |

Wollen wir nun die Resultate von unseren Untersuchungen kurz zusammenfassen, so können wir mit großer Wahrscheinlichkeit folgende Schlüsse ziehen:

I. Normale Galle von Kaninchen, Meerschweinchen, sowie Ochsengalle besitzt auf die meisten Bakterien keine agglutinierenden Eigenschaften; sehr geringe Agglutinationswerte zeigt dagegen Hundegalle.

II. Die Galle von Tieren, die an einer Infektion eingegangen sind, zeigt keine agglutinierende Wirkung auf Bakterien, desgleichen die Galle von den Tieren, die eine einzige Injektion von Typhus-, Coli- oder Influenzabacillen überstanden haben. Nur wenn die injizierte Bakterienmenge eine sehr große ist, kann hier und da ausnahmsweise Agglutination eintreten.

III. Bei den gegen die obengenannten Bakterien immunisierten Tieren besitzt die Galle eine ziemlich stark ausgeprägte agglutinierende Wirkung, die aber dem Agglutinationswerte des Serums von demselben Tiere weit untergestellt ist.

Die agglutinierenden Substanzen scheinen daher, wenn sie im Blute in nicht zu großer Menge enthalten sind, in die Galle nicht überzugehen; man kann aber aus dieser Tatsache nicht schließen, daß auch in der Leber sich die letzteren in geringer Menge befinden. Wir wissen noch wenig über die Bildungsstätte der Agglutinine im Tierorganismus, und die Ansichten über diese Frage sind noch sehr verschieden. Was die verschiedenen Organe anbetrifft, so wurden von einigen Autoren (Achard und Bensaude, Widal und Sicard, Arloing, Courmont, Fodor und Rigler) niedrigere Agglutinationswerte bei der Untersuchung der verschiedenen Organextrakte erzielt. Pfeiffer und Marx behaupten dagegen, daß in der Milz sich die agglutinierenden Substanzen in größerer Konzentration anhäufen, van Emden betrachtet das lymphoide Gewebe als die Bildungsstätte der Agglutinine, ohne aber auszuschließen, daß auch die Leber, Nieren, Lungen bei der Agglutininproduktion beteiligt sein können.

Aus unseren Untersuchungen können wir, wie gesagt, keine allgemeinen Schlußfolgerungen über die Leberfunktion bei der Erzeugung von Agglutininen ziehen. Und desto weniger können wir aus den niedrigeren Werten, die wir bei der Agglutinationsprüfung der Galle bei den immunisierten Tieren erzielt haben, im Vergleiche mit dem Blute, die Tätigkeit der Leber bei der Bildung von Agglutininen ausschließen. Bei einigen der von mir in diesem Sinne angestellten Experimente zeigte das aus der Leber ausgepreßte Blut ja auch höhere Agglutinationswerte als das Blut, welches aus dem Herzen des Tieres gewonnen wurde, und doch besaß die Galle eine viel niedrigere Agglutinationsfähigkeit, als das Blutserum selbst. Die Galle verhält sich übrigens, was die Agglutination anbelangt, ähnlich wie die anderen Tierflüssigkeiten (Urin, Milch etc.), bei welchen sich die Agglutinationswerte immer niedriger als bei dem Blutserum gestalten.

Am Schlusse meiner Arbeit spreche ich dem Direktor unserer Klinik meinen verbindlichsten Dank aus für die rege Unterstützung, die er mir bei jeder Gelegenheit erwiesen hat.

---

# Eine Typhusanreicherungsmethode.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg. Direktor: Prof. Dr. Forster.]

Von Dr. med. **E. Altschüler,** Assistenten des Institutes.

(Mit 1 Figur.)

Die jüngst in dieser Zeitschrift (Bd. XXXIII. Heft No. 5) gegebene Mitteilung von Schepilewsky: „Ueber den Nachweis der Typhusbakterien im Wasser nach der Methode von Dr. A. W. Windelbandt" veranlaßt mich zu folgender, vorläufigen Mitteilung.

Der in letzter Zeit in vielen Ländern mit besonderer Energie wiederaufgenommene Kampf gegen den Typhus abdominalis machte das Verhältnis seines Erregers zum Wasser wieder zum aktuellen Studium, da ja diese Frage für die Epidemiologie der Krankheit von großer Wichtigkeit ist. Die nächstliegende Aufgabe war nun die, erst einmal den Erreger des Typhus abdominalis im Wasser nachzuweisen. Auf die vielen, bis jetzt angegebenen Verfahren, die den Nachweis von Typhusbacillen im Wasser erbringen sollen, will ich nicht näher eingehen. Schon die Vielheit zeigt, daß sie alle mehr oder minder im Stiche lassen. Dieser Uebelstand war die Ursache, daß auch im hiesigen Institut auf Veranlassung von Herrn Prof. Forster der Frage näher getreten wurde.

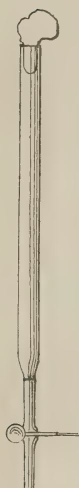
Die Schwierigkeiten, mit denen der Nachweis verbunden ist, sind ja bekannt: die durch Verteilen im Wasser bedingte geringe Anzahl der fraglichen Keime im Verhältnis zu anderen Bakterien und das Ueberwuchern der letzteren, vor allem von Coli- und Proteus-Arten, die in der Regel in Gemeinschaft von Typhusbacillen im verunreinigten Wasser gefunden werden. Wie sonst, so konnte auch hier eine Methode nur Aussicht haben, die mit Erfolg eine Anreicherung und zugleich eine Isolierung der Typhusbacillen erreicht.

Die sicherste Art der Isolierung ist die spezifische Agglutination. War man imstande, diese mit einer Anreicherung zu verbinden, so konnte man ein Resultat erhoffen. Von diesem Gedanken ausgehend, kam ich, unabhängig von Windelbandt und Schepilewsky, zu einem Verfahren, dessen Prinzip mit den von Windelbandt angegebenen übereinstimmt, das sich aber in seiner technischen Ausführung wesentlich von ihm unterscheidet.

Das zur Untersuchung dienende Wasser wird in der zur Verfügung stehenden Menge behufs Anreicherung seiner Bakterienflora mit Pepton und Kochsalz im Verhältnis von 1 und $^1/_2$ Proz. versetzt. So behandelt, kommt das Wasser 24 Stunden in den Brutschrank, der auf ungefähr 37° gehalten wird. Es ist klar, daß neben den etwa vorhandenen Typhusbacillen auch die übrigen, im Wasser befindlichen Bakterien zur Vermehrung gebracht werden. Nach 24 Stunden wird das Wasser in einem, in folgender Weise konstruierten Apparat weiter behandelt. Daß der Apparat vor seinem Gebrauch sterilisiert wird, brauche ich nicht besonders zu erwähnen.

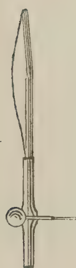
Von den oberflächlichen Randpartien des Wassers werden ungefähr 10 ccm mit steriler Pipette entnommen und in ein Röhrchen gebracht, welches die Größe eines Reagensglases hat und unten mit einer konisch

ausgezogenen Oeffnung endet. Das untere Ende steckt in einem kleinen Gummischlauch, der mit einer Klemme geschlossen ist. Zu diesen 10 ccm Wasser wird nun Blutserum eines mit Typhusbacillen immunisierten Tieres gebracht in einer Menge, die eine Agglutination im Verhältnis von 1 : 50 herbeiführt. Die Agglutination erzeugt einen Niederschlag, der sich in dem konisch zulaufenden unteren Ende des Röhrchens absetzt. Im Verlaufe der Agglutination werden außer den Typhusbacillen höchstwahrscheinlich auch andere Mikroorganismen mitgerissen. Man tut deshalb gut, um eine womögliche Lostrennung dieser Bakterien zu erleichtern, das Röhrchen 2—3mal während der Agglutination umzuschütteln.



Nach Verlauf von ungefähr 7 Stunden, nach welcher Zeit die Agglutination als beendet betrachtet werden darf, wird der gebildete Niederschlag in ein zweites Röhrchen gelassen Dieses ist vorher mit einer sterilen Lösung von 1 Proz. Pepton und $^1/_2$ Proz. Kochsalz gefüllt und enthält einige Körnchen feinen Quarzsandes von ungefähr 2 mm Korngröße. Das zweite Röhrchen ist halb so groß als das erste, läuft an beiden Enden konisch aus und ist oben und unten durch Gummischlauch und Klemme abgeschlossen. Das Ablassen des Sedimentes geschieht durch Oeffnen der Klemmen. Durch tüchtiges Umschütteln wird nun mit Hilfe der Sandkörnchen die Agglutination wieder aufgehoben, und dann das zweite Röhrchen zur Anreicherung seines Inhaltes auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt.

Nach Ablauf der 24 Stunden sind die Typhusbacillen in relativ viel größerer Menge vorhanden, und man ist meistens jetzt schon imstande, durch Verarbeiten des im Röhrchen befindlichen Materiales — am besten durch Ausstreichen auf Drigalski-Conradischen Nährböden — Typhusbacillen nachzuweisen.



Um jedoch sicher zu gehen, ist es vorteilhaft, daneben noch die übrig gebliebene Flüssigkeitsmenge des zweiten Röhrchens mit Hilfe von einem gleich dem zweiten konstruierten dritten Röhrchen auf dieselbe, oben angegebene, Art weiter zu behandeln, also: nochmaliges Zusetzen von Typhusimmunserum im Verhältnis von 1 : 50, mehrmaliges Umkippen, Ablassen des Sedimentes nach 7 Stunden in das dritte Röhrchen, tüchtiges Schütteln und Einstellen auf 24 Stunden in den Brutschrank. Nach dieser Zeit werden dann nochmals Platten mit Lackmusmilchzuckeragar bestrichen.

Auf die beschriebene Art war es mir möglich, in 1 l Wasser, dem in sterilem Zustande 150 Typhuskeime und 2 Oesen (1 Oese = 2 mg) einer 2 × 24-stündigen Coli-Kultur zugesetzt waren, Typhusbacillen zu isolieren. Es gelang mir ferner der Nachweis des Eberthschen Bacillus in 1 l Flußwasser, das mit ungefähr 500 Typhusbacillen infiziert wurde und das in 1 ccm gegen 30 000 Keime anderer Bakterien enthielt. Ob die angegebenen Zahlen die Minimalmenge der nachweisbaren Typhusbacillen sind, vermag ich noch nicht anzugeben. Hierzu sind noch weitere Versuche nötig. Ich verfüge ferner über einen Fall, bei dem mir der Nachweis von Typhusbacillen in den Faeces eines Typhuskranken gelang, nachdem die anderen bisher üblichen Methoden, auch die Untersuchung auf Drigalski-Conradischen Nährböden, fehlgeschlagen hatten.

Mit Untersuchungen darüber, ob nicht eine Verbesserung der Methode dadurch möglich ist, daß man mit Krystallviolett oder anderen Zusätzen zu dem zu untersuchenden Wasser den Typhusbacillen die Konkurrenz mit den Wasserbakterien von vornherein erleichtert, bin ich noch beschäftigt. Die Methode selbst läßt sich noch modifizieren und vereinfachen, wenn man den Apparat durch ein im Handel vorkommendes Spitzglas ersetzt, dessen Spitze in einen halbkugelig ausgeschliffenen Raum des horizontalen Astes eines Glashahnes ausläuft. In den Hohlraum müssen die Körnchen von Quarzsand untergebracht werden. Durch Umdrehen des Glashahnes, Erneuerung mit frischer Peptonkochsalzlösung, also analog der oben beschriebenen Methode, bin ich dann weiter verfahren.

Die wenigen und größtenteils unter künstlichen Bedingungen ausgeführten Versuche genügen natürlich noch nicht, ein endgültiges Werturteil über diese Methode zu fällen. Die Untersuchungen von Fällen aus der Praxis müssen hier entscheiden.

Straßburg, 16. Februar 1903.

---

*Nachdruck verboten.*

# Zum Nachweis von Typhuserregern im Wasser.

[Aus dem hygienisch-bakteriologischen Untersuchungsamt bei der Kgl. Regierung in Münster.]

Von Dr. **C. Hagemann.**

Mit 1 Figur.

Schepilewsky in Petersburg hat vor kurzem ein Verfahren veröffentlicht zum Nachweis der Typhusbakterien im Wasser [1]). Er versuchte und bewerkstelligte die Auffindung der Bakterien in künstlich infiziertem Wasser, noch bei weitgehender Verdünnung bezw. Rarefizierung des Kulturmaterials, durch Ausfällung mittelst spezifischen Serums, in Anlehnung an eine von seinem Landsmann Windelbandt im vorigen Jahre publizierte Methode [2]). Ein der letzteren ähnliches Verfahren hatte auch Chantemesse im vorigen Jahre empfohlen [3]).

Schepilewsky sagt mit Recht, daß ein derartiges Vorgehen, falls es in der Praxis sich nun wirklich allgemein anwendbar erweisen würde, sozusagen das natürlichste wäre. Es erscheint die Zuhilfenahme des spezifischen Serums zur Isolierung der Typhusbakterien in der Tat so natürlich und so naheliegend, daß wohl so ziemlich ein jeder bei der Beschäftigung mit dem vorliegenden Problem diese Möglichkeit schon ins Auge gefaßt hat.

Abgesehen von den allgemeinen und prinzipiellen Bedenken, die gegen das nun schon so vielfach mißlungene Suchen nach dem Typhuserreger im Wasser geltend gemacht worden sind [4]) waren es aber zwei Umstände, die der Isolierung durch spezifische Präzipitation hinderlich

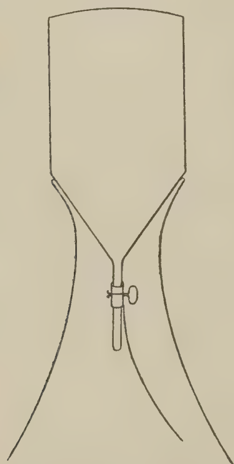
---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. No. 5.
2) Russky Wratsch. 1902. No. 19 (zit. nach Schep.).
3) Bull. de l'Acad. d. méd. No. 27 (zit. n. Schep.).
4) Vergl. Reichenbach auf der Med.-Beamtenkonferenz in Göttingen am 25. Okt. 1902. (Zeitschr. f. Med.-Beamte. 1903. p. 874.)

erscheinen mußten: einmal der Einwand, daß neben einzelnen etwa wirklich gefällten Typhusbacillen eine Ueberzahl von anderen, widerstandsfähigeren und beim nachfolgenden Kulturverfahren rascher wachsenden und überwuchernden Keimen sedimentiert werden könnte, und zweitens die vermutliche Schwierigkeit, gerade in einem bestimmten kleinen Wasserquantum eine brauchbare Menge der Typhusbacillen zu erhaschen.

Das erstere Bedenken scheint nun durch die Ergebnisse der obengenannten Untersucher entkräftet zu werden; die Praxis entspricht hier in erfreulicher Weise der a priori so einleuchtenden Theorie. Es wurden zwar gelegentlich auch einige andersartige Keime mit zu Boden gerissen, in der Hauptsache jedoch erwies sich die Wirkung des Serums eben als eine spezifische, elektive. Hinsichtlich der Wassermengen aber, die nach den vorliegenden Methoden durchgeprüft werden konnten, bleibt noch mancherlei zu wünschen übrig. Im Versuche mit künstlich infiziertem Wasser, und sei das relative Quantum an Infektionsmaterial noch so gering, kann man eben immer darauf rechnen, gerade in der Probenmenge einige Typhuskeime zu erhalten; bei der Untersuchung eines natürlich, d. h. unabsichtlich infizierten Wassers, liegen die Verhältnisse aber weit ungünstiger. Natürlich bleibt es unmöglich, den gesamten Inhalt eines Brunnens oder gar eines Flußlaufes nach den Bacillen zu durchmustern; aber wenn wenigstens die Gelegenheit geboten wird, beispielsweise 10 Liter des Wassers anstatt 10 ccm zum Versuche heranzuziehen, so sind die Aussichten auf Erfolg doch immerhin um das Tausendfache verbessert. Bei der Untersuchung des Wassers auf Cholerakeime trägt man ja bekanntlich dieser Tatsache Rechnung.

Ich habe, einer diesbezüglichen Erwägung folgend, im September vorigen Jahres einen Sedimentierapparat herstellen lassen [1]), nach dem Muster einer von anderer Seite vorgeschlagenen Einrichtung zur Absenkung und Bestimmung des Milchschmutzes, der 5 Liter Wasser faßt, aber leicht, ohne unhandlich zu werden, auch in der doppelten Kapazität hergestellt werden könnte. Das Wassergefäß ist — aus Sparsamkeitsrücksichten — aus einfachem Weißblech gefertigt; eine Ausführung in sauberer Emaillierung würde sich natürlich mehr empfehlen.



Auf einem fest angefügten Dreifuß steht ein zylindrisches Gefäß mit konischem Boden; an der tiefsten Stelle des letzteren befindet sich ein Abflußröhrchen. An dieses wird vermittelst eines Stückes Gummischlauch das Sendimentiergläschen (ca. 2 ccm fassend) befestigt. Hat sich nach 24-stündigem Stehen der Bodensatz in dem Gläschen angesammelt, so wird der Gummischlauch durch einen Quetschhahn geschlossen und das Glas zur weiteren Verarbeitung (Kultivierung) seines Inhaltes abgenommen. Der ganze Apparat ist wegen seines geringen Gewichtes leicht transportabel: kompendiöser ließe er sich machen etwa dadurch, daß man die Füße mit Charnieren zum Umlegen versieht.

Dem Vorteil der beträchtlichen Vermehrung des gleichzeitig durchzuprüfenden Wasserquan-

1) Bei E. Leubolds Nachf. Köln, Brüderstraße.

tums stand nun aber ein Nachteil gegenüber, der — wenngleich nur äußerlicher Natur — doch besonders für den mit bescheidenen Hilfsmitteln arbeitenden Untersucher schwer ins Gewicht fällt und demgemäß mich von der Vornahme hinreichend häufiger Versuche zunächst abgehalten hat: man braucht verhältnismäßig große Quantitäten eines hochwertigen Typhusserums, die eben erst beschafft sein wollen.

Der neuerliche Vorschlag von Schüder[1]) aus dem Berliner Institut für Infektionskrankheiten könnte nun hier helfend eintreten. Schüder adoptiert und vervollkommnet das Verfahren von Vallet[2]), welches gewissermaßen einen Klärungsprozeß im Wasser darstellt. Mit Hilfe eines durch chemische Zusätze erzeugten Niederschlages wird die Hauptmenge der im Wasser suspendierten Bakterien niedergerissen. Der Niederschlag wird nochmals gelöst, dann — sofern er gröbere, nicht wieder gelöste Partikel vorwiegend anorganischer Natur enthält — filtriert oder abgegossen; Filtrat bezw. Abguß wird zur Besäung von Platten verwandt. Schüder vermochte dann weiter aus dem Gemenge der Bakterien unter Benutzung des von Drigalsky-Conradischen Nährbodens Typhusbacillen, deren eine verhältnismäßig geringe Menge zum nichtsterilisierten Wasser zugesetzt worden war, schon so ohne weiteres zu isolieren.

Das von Schüder erzielte Resultat ist schon ein außerordentlich befriedigendes. Er fand die Typhuskeime wieder, nachdem er $^1/_{1000}$ Oese zu zwei Litern Wasser zugesetzt hatte; das entspricht, unter Annahme des für „Normalösen“ meist angenommenen Fassungsvermögens von 2 mg, einem Verhältnis zwischen Infektionsmaterial und Aufschwemmungsmedium von **1 : 1000 000 000.**

Aber Schepilewsky hat mit der spezifischen Fällung doch mehr erreicht. Er erhielt die Bacillen wieder, wenn er die Kultur in einer Menge von $^1/_{100\,000}$ Oese zu 1 Liter Wasser zugesetzt hatte; das entspricht einem Verhältnis zwischen Infektionsmaterial und Suspensionsmedium von **50 000 000 000,** bezw. noch etwas mehr, da Schepilewsky ausdrücklich von der Verwendung einer „kleinen“ Oese spricht. Dies Resultat ist umsomehr zu beachten, als der vom letzteren Autor zur späteren Kultur benutzte Nährboden der ganzen Schilderung nach nicht entfernt so gute Dienste leistete wie der von Schüder verwandte Drigalski-Agar.

Das Verfahren ist also noch verfeinerungsfähig. Mit Rücksicht hierauf und auf das, was über die Verwendung möglichst reichlicher Wassermengen gesagt worden ist, möchte ich vorschlagen, beide Maßnahmen zu kombinieren, d. h. man könnte unter Benutzung eines dem obigen ähnlichen Sedimentierapparates zunächst eine mechanische Bakterienfällung nach Schüders Vorgang und danach aus dem wiedergelösten Sediment eine spezifische Präzipitierung durch Serum im Reagenzglase herbeiführen.

Ich bin leider zur Zeit noch nicht in der Lage, über die Ergebnisse eines in dieser Weise kombinierten Verfahrens berichten zu können. Vielleicht würde sich in der Praxis noch diese oder jene Schwierigkeit ergeben, wie etwa eine Beeinträchtigung der spezifischen Präzipitation durch die in der Sedimentlösung enthaltenen Chemikalien. Indessen diese Schwierigkeiten dürften sich beseitigen lassen. Im Prinzip wird

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903. Heft 2.
2) Arch. de méd. expér. Juillet 1901 (zit. n. Schüd.).

jedenfalls, nach den Resultaten von Schüder und Schepilewsky, die Anwendbarkeit eines derartigen Verfahrens anerkannt werden müssen, und aus diesem Grunde habe ich mich zu einer vorläufigen Veröffentlichung für berechtigt gehalten.

---



# Ueber die Technik, die Konservation und den Transport der zur bakteriologischen Analyse bestimmten Wasserproben mittels frigoriferer Mischungen.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität Turin unter Leitung des Herrn Prof. Dr. L. Pagliani.]

Von Dr. **E. Bertarelli**, Privatdozent.

Ins Deutsche übertragen von Dozent A. Wihlfahrt, Turin.

Mit 1 Figur.

Der größte Teil der Bakteriologen verfehlt nie und mit Recht, stets darauf hinzuweisen, daß die bakteriologischen Prüfungen von Wasserproben im Laboratorium, nicht aber auf dem Fundplatze gemacht werden sollten. Daraus entsteht das Bedürfnis nach geeigneten Konservationsmitteln, um zu verhindern, daß die in dem Wasser enthaltenen Keime sich beim Transporte vermehren.

Als allgemeines Transportmittel ist seit langem das Eis vorgeschlagen und angenommen worden. Zu diesem Zwecke dienen Holzkassetten, die inwendig mit Metall ausgekleidet sind und einen besonderen Behälter fürs Eis besitzen, nebst einem anderen für die die Wasserproben enthaltenden Flaschen oder Reagenzröhren, die dann später beim bakteriologischen Examen zur Verwendung kommen. Die Beschreibung einiger dieser Kassetten findet sich in den verschiedenen Lehrbüchern.

Nun ist aber die Konservation im Eis nicht immer möglich, da es doch zuweilen sich ergeben kann, daß die Beschaffung dieses Materials auf Schwierigkeiten stößt, besonders aber da, wo die Proben in nicht sehr hohen Gebirgszonen zu sammeln sind, in denen starker Schneefall nicht vorkommt und die stundenweit entfernt sind von Eiskonservations- oder Eisfabrikationszentren. Es liegt somit auf der Hand, daß die Wahl kühlender Materien ohne Eis, mit denen es möglich wäre, die zwecks bakteriologischer Analyse angesammelten Wasserproben einige Stunden lang auf einer Temperatur von 10--12° zu halten, von nicht zu unterschätzender Bedeutung wäre.

Aehnliche Fälle haben sich nun tatsächlich zuweilen in Laboratorien verifiziert, und ohne Zweifel war es keine leichte Sache, diesem Uebelstande abzuhelfen.

In den Lehrbüchern finden sich keine diesbezüglichen Angaben. Nur eine Schrift Casagrandis besagt, daß dem Fehlen von Eis dadurch abgeholfen werden kann, daß man sich improvisierter Aetherapparate bedient, mit Hilfe derer man erwähnte Substanz auf die Wände des die Proben enthaltenden Behälters ausspritzt. Doch erübrigt es wohl zu sagen, daß auch dieses Vorgehen nicht gerade bequem und praktisch ist.

Bei sich bietender Gelegenheit habe ich daher verschiedene Kälte erzeugende Mischungen probiert, die zweckmäßig und praktisch zu sein schienen. Leider jedoch erfordern die meisten dieser Mischungen die Verwendung von Eis oder Schnee und kommen somit für unseren Fall außer Betracht, oder aber sie haben eine äußerst kurze Einwirkungsdauer. Auch die kürzlich von einer französischen Firma unter dem Namen „Boreol“ in den Handel gebrachte Mischung für die Konservation von Nahrungsmitteln bei niedriger Temperatur eignet sich ziemlich schlecht.

Einen besseren Erfolg konnte der Gebrauch der flüssigen oder stark komprimierten Kohlensäure versprechen, nur hätte ein Apparat dieser Art hohe Kosten erfordert und die Erneuerung des Materials große Mißstände gehabt.

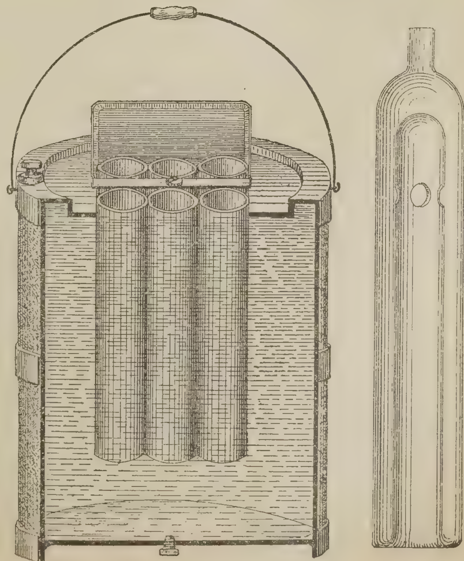
Schließlich versuchte ich auch den Gebrauch einiger Salze, die beim Zerschmelzen starken Temperaturniedergang hervorrufen; unter diesen ganz besonders einige Schwefelcyanverbindungen (Baryum, Ammonium etc.).

Das zweckmäßigste dieser Salze ist das Ammoniumschwefelcyan. Da es ziemlich toxisch ist, so muß es mit etwas Vorsicht verwandt werden; es krystallisiert leicht in stark hygroskopische Prismen, schmilzt bei 159°, bei 200° zersetzt es sich ohne Explosion. Ueberdies greift es einige Metalle an, nicht aber das Zinn.

Seine Lösungen bewirken ziemlich rasche und bedeutende Temperaturniedergänge. Taucht man in den Krystallisator, in dem die Lösung bereitet wird, einen mit Wasser gefüllten Kolben ein, so wird man bemerken, daß das Wasser darin, sobald die Schwefelcyanverbindung sich aufzulösen beginnt, gefriert (vorausgesetzt, daß die Schwefelcyanlösung von 100 Proz. ist und die umgebende Temperatur 20—25° nicht übersteigt).

Die sich am besten eignenden Lösungen sind die von 100 und 125 Proz.

Im Nachstehenden sei nun erwähnt, wie die Ansammlung der Proben gemacht werden muß, sobald das Eis schwer zu besorgen ist.



Anstatt mich beim Versand der gewöhnlichen Kassetten zu bedienen mit verschiedenen Behältern, gebrauche ich einen cylinderförmigen Apparat, der eine starke Aehnlichkeit hat mit jenem, den Herr Ingenieur Rastelli in Turin eigens zum Versand der Wasserproben konstruiert. Doch habe ich den cylindrischen Behälter etwas modifiziert. Im Zentralteile ist nämlich eine Art Metallschachtel aus gut verzinntem Kupfer mit 6 Abteilungen angebracht, in deren jeder eine Reagenzröhre stehen kann.

Rings um diese Zentralkassette ist ein ringförmiger, 5 cm breiter und ca. 2,5 cm hoher Raum disponiert, der von gut verzinnten Metallwänden vollständig eingeschlossen wird. Nur im unteren Teile ist eine Anfüllungs- und Entleerungsschraube großen Durchmessers angebracht. (Man beachte, daß auf der Abbildung auch eine obere Schraube zur Anfüllung des annularen Raumes eingezeichnet, was vollständig überflüssig ist, und außerdem ist die untere Schraube daselbst zu klein ausgefallen.)

Muß ich mich in eine fast oder ganz eisarme Zone begeben, so bediene ich mich dieses Apparates zur Erhaltung der Proben. Im Laboratorium bringe ich in den geschlossenen ringförmigen Raum 1200 bis 1300 g Ammoniumschwefelcyan in Krystallen oder Pulver und im Augenblick der Probenentnahme einen Liter Wasser. Nach Einschraubung des Verschließers schüttelt man den Apparat, und es wird dann sofort eine starke Temperaturerhöhung im Wasser der Reagenzröhren produziert. Ist dies geschehen, so werden die Reagenzröhren mit Wasserproben in den Zentralraum eingestellt.

So kann man also bei äußerer Temperatur von 22—24° in dem die Proben umgebenden Wasser eine solche von 0,8° in der ersten Stunde erhalten, in der zweiten Stunde steigt die Temperatur langsam zu 3—3,5° und erreicht dann nach und nach im Verlauf von erst 8—10 Stunden 12°. Besonders aber wenn man nicht in den heißesten Sommerwochen arbeitet und dafür Sorge trägt, daß der zylindrische Behälter stets mit einer dicken Schicht Filz bedeckt bleibt, kann man sicher sein, daß die Wassertemperatur für 10—11 Stunden 12° nicht überschreitet, höchstens aber 13—14° erreichen wird.

Im Laboratorium angekommen, öffnet man nach Fertigstellung der Kulturen die Schraube und läßt die Lösung in einen weiten Krystallisator einlaufen, woselbst man die Salze leicht wieder erhält.

Ueberdies ist es ratsam, das Innere des annularen Raumes mit einem Wasserstrahl gut zu waschen.

Es ist überflüssig, hier besonders anzuführen, daß die Verwendung des Eises viel praktischer, ökonomischer und sicherer ist. In den Fällen aber, wo es eben aus gleichviel welchen Gründen unmöglich ist, sich dieses Material zu verschaffen, kann ein solcher Apparat gute Dienste leisten und dies desto mehr, als das Gewicht desselben 4—5 kg nicht übersteigt, auch das Schwefelcyan nur wenig teuer ist (3—3,50 M. pro Kilo) und man es mit der größten Leichtigkeit aus der Lösung zurückerhalten kann. Allerdings ist es toxisch, aber in den Händen von Technikern und beim ausschließlichen Gebrauch in Laboratorien — wobei man beachte, daß der Transport erst stattfinden kann, wenn es sich in dem ringförmigen Raume befindet — bedeutet es in Wirklichkeit keine bemerkenswerte Gefahr, viel eher wäre es angebracht, zu wiederholen, daß die Metallwände gut verzinnt sein müssen, damit die Schwefelcyanlösung sie nicht angreift. Ueber jeden Zweifel erhaben ist es aber schließlich, daß die Verwendung dieses Materiales und eines derartigen Apparates in allen Fällen, wo der Gebrauch des Eises ausgeschlossen, bedeutend praktischer ist als die improvisierten Aetherpulverisatoren.

---

# Zur Methodik der bakteriologischen Wasseruntersuchung.

[Aus dem hygien. Institut der Universität Graz.]

Von Dr. **Paul Theodor Müller,** Assistenten am Institut.

In einer vor etwa $2^1/_2$ Jahren im Archiv für Hygiene. Bd. XXXVIII veröffentlichten Arbeit habe ich die Eignung des von Hesse und Niedner empfohlenen Nährbodens „Heyden-Agar" für die bakteriologische Wasseruntersuchung einer experimentellen Prüfung unterzogen und war zu dem Resultat gekommen, daß zwar die in vollkommen einwandsfreiem Trinkwasser enthaltenen Keime auf diesem Nährsubstrat weit besser gedeihen, als auf den bisher gebräuchlichen, daß jedoch für die als Verunreinigung zweifellos am meisten zu fürchtenden Harn- und Fäkalbakterien sich nicht das Gleiche behaupten läßt. Diesen letzteren gegenüber verhält sich vielmehr der Heyden-Agar nicht wesentlich anders als gewöhnlicher Agar oder Gelatine. Ich faßte auf Grund dieser Ergebnisse mein Urteil über den neuen Nährboden dahin zusammen, daß derselbe zwar eine wertvolle Bereicherung der bakteriologischen Technik bilde und gewiß bei dem wissenschaftlichen Studium der Wasserbakterien große Dienste leisten könne, daß aber seine Verwendung zur hygienischen Trinkwasserbeurteilung keine Vorteile vor den bisher gebräuchlichen Nährsubstraten biete, und daß daher meines Erachtens kein Grund vorliege, von den letzteren abzugehen.

In einem vor kurzem erschienenen Aufsatz: „Zur Methodik der bakteriologischen Wasseruntersuchung" wenden sich nun Hesse und Niedner[1]) gegen diese meine Ausführungen. Zwar bringen die genannten Autoren weder neue Tatsachen vor, noch bestreiten sie die Richtigkeit meiner Beobachtungen; sie richten sich vielmehr lediglich gegen die Schlüsse, welche ich aus meinen Experimenten ziehen zu müssen glaubte. — Ich muß mir aus Rücksichtnahme auf die Leser dieses Centralblattes, für welche eine allzu sehr ins Detail gehende Polemik wohl ohne besonderes Interesse sein dürfte, versagen, auf alle von Hesse und Niedner erhobenen Einwände einzugehen, obwohl einige von denselben sich gegen Behauptungen richten, die ich in dieser Allgemeinheit gar nicht aufgestellt hatte. Ich möchte vielmehr nur in Kürze auf den Kernpunkt der strittigen Frage eingehen und meinen diesbezüglichen Standpunkt präzisieren.

Hesse und Niedner legen sich die Frage vor: „Wozu stellen wir überhaupt bakteriologische Wasseruntersuchungen an?" und glauben dieselben ohne weiteres damit beantworten zu müssen: „um zu erfahren, welche Keimarten und wieviel Exemplare jeder einzelnen Keimart im gegebenen Augenblick ein Wasser enthält."

Demgegenüber möchte ich nun betonen, daß die Lösung dieser Aufgabe, welche Hesse und Niedner der bakteriologischen Wasseruntersuchung stellen, zwar unter Umständen von großer wissenschaftlicher Bedeutung sein kann, daß dieselbe aber für den praktischen Hygieniker, der von der Wasseruntersuchung Aufschlüsse

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LXII.

über die Güte des Wassers erwartet und nach derselben seine Maßnahmen (Sperrung des Brunnens u. s. w.) zu treffen hat, in vielen Fällen doch nur ein untergeordnetes Interesse besitzt. Was der Hygieniker zu erfahren wünscht, ist lediglich, ob sich auf bakteriologischem Wege Anhaltspunkte dafür finden lassen, daß einem Wasser von irgend welcher Seite her Verunreinigungen zugeführt werden, oder nicht.

Daß aber zur Beantwortung dieser Frage der Heyden-Agar entschieden weniger geeignet ist, als die gewöhnlichen, mit Fleischwasser hergestellten Nährböden, möchte ich an einem kleinen Beispiel dartun.

Wie aus Tabelle VII meiner bereits zitierten Arbeit hervorgeht, ergab die bakteriologische Untersuchung des hygienisch in jeder Beziehung vollkommen einwandsfreien Wassers der Grazer Wasserleitung bei Verwendung von gewöhnlichem Agar 20 Keime im Kubikcentimeter, also eine Zahl, welche nach allgemeinen Erfahrungen als sehr gering angesehen werden muß und mit der vortrefflichen Beschaffenheit des genannten Wassers in bestem Einklange steht. Auf dem Heyden-Agar hingegen waren ca. 675 Kolonieen unter genau gleichen Bedingungen zur Entwickelung gelangt. Da nun, wie bereits erwähnt, das Grazer Leitungswasser als vollkommen tadellos angesehen werden muß, so müssen Hesse und Niedner somit auch einen, auf dem Heyden-Agar zu konstatierenden Keimgehalt von 675 Keimen als zulässig und unverdächtig erklären, während ein solcher Keimgehalt, auf gewöhnlichem Agar beobachtet, bereits schwere Bedenken gegen die Brauchbarkeit des betreffenden Wassers erregen und jedenfalls zu einer genauen lokalen Erhebung der Brunnenverhältnisse u. s. w. Veranlassung geben müßte.

Setzen wir nun den Fall, daß das Grundwasser, welchem die Grazer Wasserleitung ihren Bedarf entnimmt, und welches, wie ich mich wiederholt überzeugt habe, auch auf Heyden-Agar nur ganz vereinzelte Kolonieen entstehen läßt, von irgend einer Seite her mit Fäkalmassen oder Urin derart verunreinigt würde, daß sein Keimgehalt, bei Verwendung von Heyden-Agar, auf 675 Keime pro Kubikcentimeter ansteigen würde, also noch innerhalb jener Grenzen liegen würde, welche, wie erwähnt, auch bei tadellosem Trinkwasser beobachtet werden. Ein Grund zur Beanstandung läge in diesem Falle nicht vor, wenn man der Beurteilung des Wassers den Befund auf dem von Hesse und Niedner empfohlenen Nährboden zu Grunde legt. Anders hingegen bei Verwendung der gewöhnlichen Nährsubstrate. Wie ich in meiner Arbeit zeigen konnte, gelangen von Kot oder zersetztem Harn nicht mehr Bakterien auf dem Heyden-Agar zur Entwickelung, als auf gewöhnlichem Agar oder Gelatine, und es würde somit in dem oben supponierten Falle auch die Untersuchung des verunreinigten Wassers mittels gewöhnlichem Agar eine Vermehrung der Keimzahl auf 675 pro Kubikcentimeter ergeben. Dieser Befund würde aber sofort als abnorm zu erkennen sein und auf eine stattgefundene Verunreinigung hindeuten, da ein derartig hoher Keimgehalt, auf den gewöhnlichen Nährböden fast nie beobachtet werden kann, wenn es sich um reines unverdächtiges Brunnen- oder Quellwasser handelt. Es kann somit kein Zweifel sein, daß in einem derartigen Falle, der durchaus nicht etwa zurecht gekünstelt ist, sondern wohl recht häufig in praxi vorliegen dürfte, sich die gewöhnlichen Nährböden dem Heyden-Agar weitaus

überlegen zeigen müssen. — Zu demselben Schlusse führt ein zweites Beispiel, das, im Gegensatz zu dem erstaufgeführten erweisen soll, wie man unter Umständen dazu veranlaßt werden könnte, ein tadelloses Trinkwasser für verdächtig zu erklären, wenn man sich nur auf den mittels Heyden-Agar erhobenen Befund stützen würde.

Nach Tabelle XIII meiner bereits mehrfach zitierten Arbeit fand sich im Leitungswasser, das etwas längere Zeit im Rohre gestanden war, auf gewöhnlichem Agar ein Keimgehalt von 124, auf Heyden-Agar hingegen von 11 920. Andererseits war der Keimgehalt eines zweifellos hochgradig verunreinigten Wassers (Tab. XXIII, Mühlgang) 2160 bezw. 3480. Mittels Heyden-Agar waren somit in dem einige Zeit gestandenen aber sonst reinen Leitungswasser bedeutend mehr Keime nachzuweisen, als in stark verschmutztem Wasser, und man müßte daher konsequenterweise auch das erstere für das schlechtere erklären, wenn man das Verhalten gegenüber Heyden-Agar zum Maßstab nehmen wollte. Hingegen geben die gebräuchlichen Nährböden auch hier wieder die zuverlässigere Auskunft auf die Frage nach der Güte des Wassers, in dem zwar auch bei dem gestandenen Leitungswasser eine Vermehrung der Keime zu konstatieren ist, die sich aber noch in den erlaubten Grenzen hält, während das Mühlgangswasser als verunreinigt ohne weiteres durch den abnorm hohen Keimgehalt von 2160 charakterisiert ist.

Ich glaube, diese wenigen Beispiele werden genügen, um zu erweisen, daß in der Tat der Heyden-Agar für die hygienische Wasserbeurteilung weniger geeignet ist, als die gebräuchlichen Nährböden.

Uebrigens hat diese meine Ansicht durch eine sehr eingehende, im Kaiserl. Gesundheitsamt zu Berlin ausgeführte Arbeit von Prall[1]) eine vollkommene Bestätigung erfahren. Prall schreibt wörtlich: „Durch diese Versuche dürfte das Paul Müllersche Urteil über den Hesse-Niednerschen Nährboden bestätigt werden. Die Nährböden mit der Albumose „Nährstoff Heyden“ geben zwar und besonders bei reinem oder wenig verunreinigtem Wasser, wie Leitungs- oder Flußwasser, höhere Keimzahlen, als die bisher gebräuchlichen alkalischen Fleischwasserpeptonnährböden, aber bei Wässern, die erwiesenermaßen verunreinigt sind mit Kot und Harn, also mit Stoffen, welche am ehesten gefährliche Krankheitserreger (Typhusbacillen und Choleravibrionen) ins Wasser bringen können, sind die Resultate nicht so günstig, weil die eben genannten Bakterienarten sehr schlecht auf den Albumosennährböden gedeihen.“

Diese Tatsache, daß exquisit pathogene Bakterien, wie Cholera- und Typhusbacillen, auf Heyden-Agar nur schlecht gedeihen, läßt wohl auch die von Hesse und Niedner ausgesprochene und gegen mich ins Feld geführte Hoffnung, daß mit Hilfe ihres Nährbodens neue krankmachende Keime im Trinkwasser entdeckt werden könnten, als etwas sanguinisch erscheinen. Sollte jedoch wider Erwarten diese Hoffnung von Hesse und Niedner tatsächlich in Erfüllung gehen, so wäre ich gewiß gerne bereit, mein Urteil über ihren Nährboden in diesem Sinne zu modifizieren; bis jetzt liegt allerdings — solange ein derartiger Nachweis nicht wirklich erbracht wurde — keinerlei Veranlassung hierzu vor.

Wenn schließlich Hesse und Niedner die Vermutung aus-

1) Arbeiten a. d. Kais. Gesundh.-Amt. Bd. XVIII.

sprechen, daß ich zu einem weniger abfälligen Urteile über ihren Nährboden gelangt wäre, wenn ich meine Untersuchungen noch auf Trinkwasser und Abwässerfiltrate sowie auf die Frage der Selbstreinigung der Flüsse ausgedehnt hätte, so muß ich demgegenüber darauf hinweisen, daß sich ja ein Teil meiner Versuche gerade auf Trinkwasser bezog; daß ich ferner in bisher noch nicht publizierten Versuchen über Selbstreinigung der Mur sowie stehender Bassins auch Heyden-Agar in Anwendung gezogen habe, ohne allerdings hiervon wesentliche Vorteile zu sehen; und daß ich schließlich gerade bezüglich der Abwässerfiltrate, über welche mir keinerlei persönliche Erfahrungen zu Gebote standen, mich in meiner Arbeit wesentlich reservierter ausgesprochen habe.

Kurz nochmals resümierend, stehe ich somit auch nach der Erwiderung Hesse und Niedners auf dem Standpunkt, daß

1) der Heyden-Agar zwar für wissenschaftliche Studien über die Wasserbakterien eine sehr wertvolle Bereicherung unserer Technik darstellt, daß jedoch

2) seine Verwendung für die praktisch-hygienische Aufgabe der Trinkwasserbeurteilung im allgemeinen nicht zu empfehlen sein dürfte.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

## Inhalt.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XXXIII. No. 10.



# Ueber die Gruppe des Bacillus proteus vulgaris.

[Aus dem Institut für Hygiene u. Bakteriol. der Universität Straßburg.]

Von Dr. med. **Richard Weber.**

Im Anschluß an die Arbeiten von Max Meyerhof: „Ueber einige biologische und tierpathogene Eigenschaften des Bacillus proteus (Hauser)“[1]) und von Sidney Wolf: „Beiträge zur Lehre der Agglutination mit besonderer Bezugnahme auf die Differenzierung der Coli- und Proteusgruppe und auf die Mischinfektion“ (Straßburg 1898), die auf Veranlassung von E. Levy am hygienischen Institute zu Straßburg ausgeführt wurden, stellte ich auf Anregung desselben Autors Untersuchungen an, die zu dem Resultate führten, daß die Bakterien, die bisher unter dem Namen Proteus vulgaris geführt wurden, keine Einheit vorstellen, sondern daß es sich um eine Gruppe von Mikroorganismen handelt, genau wie dies bei Bacterium coli bereits bekannt ist.

Ich legte eine Anzahl von Proteus-Kulturen an, die ich aus faulendem Fleisch züchtete, und fand darunter 3 verschiedene Stämme, die sich allerdings nur durch geringfügige biologische Merkmale unterscheiden lassen, wohl aber scharfe Differenzen bei der Agglutinationsprobe zu erkennen geben. Ich bezeichne die 3 Stämme mit A, B und C, und zwar fand ich unter 9 Kulturen 4 vom Charakter A, 3 vom Charakter B und 2 vom Charakter C.

Die biologischen Eigenschaften sind am besten aus nachfolgender Tabelle ersichtlich.

Der Stamm A entspricht vollkommen dem typischen Bacillus proteus vulgaris (Hauser). Der Hauptunterschied der 3 Stämme beruht in ihrem Verhalten gegen Zuckerlösungen und in der Indol- und Nitritbildung. Während A in Bouillon Rohrzucker und Traubenzucker vergärte, wurde von B nur Traubenzucker vergoren, von C dagegen gar keine der 3 Zuckerarten.

In Cohnscher Nährlösung wurde dagegen von allen 3 Stämmen Rohr- und Traubenzucker vergoren, Milchzucker nicht.

Nach 8 Monaten vergärte der Stamm B ebenso wie A Rohr- und Traubenzucker; 2 weitere Monate später begann auch C beide Zuckerarten zu vergären. Die einfachste Deutung dieses auffallenden Befundes scheint mir folgende: Man muß annehmen, daß die Stämme B und C ursprünglich aus der Bouillon irgendwelche antifermentativ wirkende Stoffe gebildet hatten, die die Gärung verhinderten. Im Cohnschen Nährboden fanden sie die hierzu nötigen Körper nicht vor, so daß hier die Gärung ohne weiteres vor sich gehen konnte.

Nach längerer Züchtung auf künstlichen Nährböden verloren sie später das Vermögen, diese Stoffe zu bilden, und so konnte jetzt auch der in Bouillon gelöste Zucker zur Vergärung kommen.

Diese Tatsache braucht uns nicht wunder zu nehmen, da eine solche Veränderung bezüglich des die Gelatine verflüssigenden Fer-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIV.

Tabelle der Lebenseigenschaften von Proteus vulgaris (Hauser), Proteus A, Proteus B, Proteus C.

| Eigenschaften | Proteus vulgaris der Autoren | Proteus A | Proteus B | Proteus C |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| [illegible]m und Beweglichkeit | Größe außerordentlich wechselnd. Bildung langer Fäden. Lebhafte Beweglichkeit. | Lebhaft bewegliche Stäbchen und Fäden | Wie A | Wie A |
| Sporen | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Färbung | Gram — | Gram — | Gram — | Gram — |
| Temperaturen | Temperaturoptimum 20—24 °. Wächst auch im Eisschrank | Temperaturoptimum 24 ° | Temperaturoptimum 24 ° | wie A |
| Sauerstoffbedürfnis | fakultativ anaërob | fakultativ anaërob | wie A | wie A |
| Gelatine | Verflüssigung. Im Stich an der Oberfläche Verflüssigung bis an den Glasrand und schlauchförmig in die Tiefe. Anfangs gleichmäßige Trübung, später Flocken, die zu Boden sinken<br>Bei Sauerstoffabschluß keine Verflüssigung | wie nebenstehend; Verflüssigung auch bei Sauerstoffabschluß | wie A; die verflüssigte Gelatine färbt sich nach längerer Zeit schmutzigrot | wie A |
| 5-proz. Gelatineplatten | Schwärmkolonieen (nicht immer vorhanden) | Schwärmkolonieen | Schwärmkolonieen | keine Schwärmkolonieen |
| Bouillon | starke Trübung und Häutchenbildung, später Wolken, die sich als feinkörnige, weiße Masse zu Boden setzen | wie nebenstehend | wie A | wie A |
| Agar-Agar | bläulich-grauer, glänzender Belag | hellgrauer, glänzender Belag | wie A | wie A, später bräunlich werdend |
| Blutserum | kaum peptonisiert (Flügge) | stark peptonisiert | wie A | wie A |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Fibrin | | nicht peptonisiert | wie A | wie A |
| Kartoffel | gelbgrauer, schmieriger Belag | gelbgrauer, schmieriger Belag | wie A | wie A |
| Milch | koaguliert unter Säurebildung, Kaseïn später wieder peptonisiert | wie nebenstehend | wie A | wie A |
| Harn | gutes Wachstum unter Bildung von $NH_3$ | wie nebenstehend | gutes Wachstum. Kein $NH_3$ | wie B |
| Gärung | Trauben- und Rohrzucker werden vergoren | wie nebenstehend | nur Traubenzucker vergärt | keine Gärung |
| Indol | + | — | — | + |
| Nitrit | + | + | — | — |
| Stinkende Gase | Geruch, der an faulen Käse erinnert | Geruch nach faulendem Käse | wie A; in Gelatine $NH_3$ | weniger intensiver Gestank in Bouillon und Gelatine als bei A und B; in Blutserum Geruch nach Schwefelwasserstoff |
| Schädigende Einflüsse | wird durch 10 Minuten langes Erhitzen auf 56° abgetötet | durch 10 Min. langes Erhitzen auf 56° abgetötet; durch Glycerin + 20-proz. NaCl nach 4 Tagen abgetötet. Durch 75-proz. Glycerin b. Zimmertemp. nach 4 Tagen abgetötet, bei 37° nach 2 Tagen, im Eisschrank nach 23 Tagen | durch 10 Minuten langes Erhitzen auf 56° abgetötet; durch 75-proz. Glycerin abgetötet: bei Zimmertemperatur nach 4 Tagen, bei 37° nach 2 Tagen, bei 6° nach 6 Monaten noch lebendig | bei 56° nach 10 Minuten abgetötet; durch 75-proz. Glycerin im Eisschrank nach 10 Tagen abgetötet, sonst wie A und B |
| Pathogenität | nur in großen Dosen (1—2 ccm) pathogen | Maus mit 0,5 ccm geimpft, fällt nach 6 Stunden | Maus mit 0,5 ccm geimpft, fällt nach 6—12 Stunden | Maus konnte nicht zu Fall gebracht werden durch ½—1 ccm |
| Fundort | faulende tierische Substanzen, jauchige Geschwüre u. dgl. | gehacktes Fleisch, das einige Tage lang in Wasser gefault hat; ein anderer Stamm in Reinkultur aus perityphlit. Absceß | Oberfläche eines Wassers, das 2 Tage lang über gehacktem Fleisch gestanden hat bei Zimmertemperatur | aus Fleisch gezüchtet, das 4 Tage lang im Eisschrank in dünner Schicht gestanden hat |

mentes bei demselben Bacillus durch E. Levy schon bekannt geworden ist[1]).

Was die Indol- und Nitritbildung anbetrifft, so konnte ich bei A nur Nitrit, bei C nur Indol, bei B weder das eine noch das andere nachweisen. Der typische Bacillus proteus vulgaris soll Indol und Nitrit bilden.

Die Agglutinationsversuche ergaben, daß gegenseitige Agglutination bei Serum A gegen B und C nur in Verdünnung von 1 : 10, bei Serum B gegen A und C in Verdünnung von 1 : 50 vorhanden war. Bei stärkerer Verdünnung aller 3 Sera war nur noch homologe Agglutination zu konstatieren. Serum C ergab überhaupt keine heterologe Agglutination.

Durch den Ausfall dieser letzteren Versuche ist also erwiesen, daß es sich um 3 verschiedene Rassen handelt. Zwei andere Stämme, N und S, beschreibt Sidney Wolf in der oben genannten Arbeit, die kulturell auch größtenteils miteinander übereinstimmen, bei denen aber auch keine gegenseitige Agglutination vorhanden ist, so daß es sich auch hier wieder um verschiedene Rassen handelt, die sich der Proteus-Gruppe unterzuordnen haben.

---



# Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. III. und IV.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Dozent Dr. **Oskar Bail**, Assistenten des Institutes, und Dozent Dr. **Alfred Pettersson**, Stockholm.

Mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen.

## III. Untersuchung der Ergänzungsfähigkeit verschiedener Serumarten durch Kaninchenserum.

Die Erscheinung, daß an sich gegen Milzbrandbacillen völlig unwirksame Sera durch Zusatz geringer Mengen von Kaninchenserum einen hohen Grad von Wirksamkeit erhalten, ist nicht nur auf das Serum des Hundes (Bail, Pettersson) und des Huhnes (Pettersson), also relativ milzbrandimmuner Tiere beschränkt. Wie bereits in einer früheren Abhandlung erwähnt wurde[2]), läßt sich auch Schafserum durch Kaninchenblut wirksam ergänzen.

Ausgedehntere Untersuchungen, die vorläufig ohne weitergehende Schlußfolgerungen, welche vorbehalten bleiben, mitgeteilt werden sollen, zeigten, daß diese Eigentümlichkeit weit verbreitet ist. Die Sera verschiedenster Tiere ergaben, an sich wirkungslos, mit Kaninchenserum gemischt starke Abtötung von Milzbrandbacillen.

---

1) Levy, E., Experimentelles und Klinisches über die Sepsinvergiftung und ihren Zusammenhang mit Bacillus proteus (Hauser). (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XXXIV.)

2) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. p. 353.

Untersucht wurden:
Ochsenserum (Sera von 6 Tieren in 10 Versuchen),
Kalbserum ( „ „ 3 „ „ 4 „ ),
Schweineserum ( „ „ 6 „ „ 10 „ ),
Schafserum ( „ „ 2 „ „ 5 „ ),
Ziegenserum (Serum 1 Tieres in 2 Versuchen),
Menschenserum (2 verschiedene Sera aus Nabelstrangblut),
Meerschweinchenserum (Sera von 6 Tieren in 6 Versuchen).

Wie die Mitteilung einiger Versuche beweist, ergaben die Sera von Mensch, Ochs, Kalb, Schwein und Ziege ausnahmslos positive Resultate.

Tabelle I.

| Versuche mit Ochsenserum | A. Einsaat | A. nach 4 Stdn. | B. Einsaat | B. nach 4 Stdn. |
|---|---|---|---|---|
| 1) 1 ccm Ochsenserum | 610 im Mittel | ca. 3000 | 1112 im Mittel | ca. 5000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum aktiv | | 5 | | 10 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ „ | | 64 | | 24 |
| 4) 1 „ „ + 0,01 „ „ „ | | 360 | | 21 |
| 5) 1 „ „ $^1/_2$ St. 58° + 0,05 ccm Kaninchenser. $^1/_2$ Std. 58° | | 40 | | 17 |
| 6) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° + 0,01 „ „ $^1/_2$ „ 58° | | 792 | | 9 |
| 7) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° + 0,1 „ Kaninchenserum aktiv | | 3 | | 16 |
| 8) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° + 0,05 „ „ „ | | 27 | | 27 |
| 9) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° + 0,01 „ „ „ | | 758 | | 36 |
| 10) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° | | ca. 3000 | | ca. 5000 |

Tabelle II.

| Versuche mit Kalbserum | B. Einsaat | B. nach 4 Stdn. | C. nach 4 Stdn. |
|---|---|---|---|
| 1) 1 ccm Kalbserum | 1228 im Mittel | ca. 10 000 | ca. 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 Kaninchenserum aktiv | | 0 | 2 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ | | 6 | 1 |
| 4) 1 „ „ + 0,01 „ „ | | 11 | 32 |
| 5) 1 „ „ $^1/_2$ Std. 58° + 0,05 Kaninchenserum $^1/_2$ Std. 58° | | 5 | 17 |
| 6) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° + 0,01 „ $^1/_2$ „ 58° | | 21 | 37 |
| 7) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° + 0,1 Kaninchenserum aktiv | | 7 | 0 |
| 8) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° + 0,05 „ „ | | 14 | 15 |
| 9) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° + 0,01 „ „ | | 4 | 19 |
| 10) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° | | über 10 000 | über 10 000 |

Tabelle III.

| Versuche mit Schweineserum | C. Einsaat | C. nach 4 Stdn. | D. nach 4 Stdn. |
|---|---|---|---|
| 1) 1 ccm Schweineserum | 1424 im Mittel | über 10 000 | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum aktiv | | 1 | 0 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ „ | | 1 | 20 |
| 4) 1 „ „ + 0,01 „ „ „ | | 22 | 17 |
| 5) 1 „ „ $^1/_2$ St. 58° + 0,05 „ „ $^1/_2$ St. 58° | | 26 | 2 |
| 6) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° + 0,01 „ „ $^1/_2$ „ 58° | | 35 | 16 |
| 7) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° + 0,1 „ „ | | 84 | 54 |
| 8) 1 „ „ $^1/_1$ „ 58° + 0,05 „ „ | | 0 | 6 |
| 9) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° + 0,01 „ „ | | 22 | 16 |
| 10) 1 „ „ $^1/_2$ „ 58° | | über 10 000 | über 10 000 |

Tabelle IV.

| Ziegenserum | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Ziegenserum | 488 im Mittel | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum aktiv | | 0 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ „ | | 0 |
| 4) 1 „ „ + 0,01 „ „ „ | | 0 |
| 5) 1 „ „ 1/2 St. 58° + 0,1 „ „ „ | | 0 |
| 6) 1 „ „ 1/2 „ 58° + 0,05 „ „ „ | | 0 |
| 7) 1 „ „ 1/2 „ 58° + 0,01 „ „ „ | | 0 |
| 8) 1 „ „ 1/2 „ 88° | | über 10 000 |

Tabelle V.

| Nabelstrangblut vom Menschen | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Menschenserum | 2088 im Mittel | über 8000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum aktiv | | 72 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ „ | | 44 |
| 4) 1 „ „ + 0,01 „ „ „ | | 2488 |
| 5) 1 „ „ 1/2 St. 58° + 0,1 „ Kaninchenser. 1/2 St. 58° | | 224 |
| 6) 1 „ „ 1/2 „ 58° + 0,05 „ „ 1/2 „ 58° | | 840 |
| 7) 1 „ „ 1/2 „ 58° + 0,1 „ Kaninchenserum aktiv | | 164 |
| 8) 1 „ „ 1/2 „ 58° + 0,05 „ „ „ | | 92 |
| 9) 1 „ „ 1/2 „ 58° + 0,01 „ „ „ | | 2944 |
| 10) 1 „ „ 1/2 „ 58° | | über 8000 |

Im Gegensatze zu der regelmäßigen Ergänzungsfähigkeit dieser Serumarten steht das vollkommen schwankende Verhalten von Schaf- und Meerschweinchenserum. Bisher konnte nur das Blut zweier Schafe untersucht werden. Das des einen Tieres ließ sich selbst durch Zusatz von $^1/_{10}$ Kaninchenserum gar nicht wirksam machen, während das des zweiten bei wiederholter Entnahme deutliche Wirkung zeigte.

Tabelle VI.

| Schafserum | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Schafserum | 388 im Mittel | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum aktiv | | 29 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ „ | | 384 |
| 4) 1 „ „ + 0,01 „ „ „ | | 4800 |
| 5] 1 „ „ + 0,1 „ Kaninchenser. 1/4 St. 63° | | 9270 |
| 6) 1 „ „ + 0,05 „ „ 1/4 „ 63° | | 9600 |
| 7) 1 „ „ 1/4 St. 63° + 0,1 „ Kaninchenserum aktiv | | 72 |
| 8) 1 „ „ 1/4 „ 63° + 0,05 „ „ „ | | 752 |
| 9) 1 „ „ 1/4 „ 63° + 0,01 „ „ „ | | über 10 000 |
| 10) 1 „ „ 1/4 „ 63° | | „ 10 000 |

Noch größere Differenzen sind bei Verwendung des Serums von Meerschweinchen festzustellen. Als Regel scheint zu gelten, daß eine Ergänzung nur in dürftigem Ausmaße gelingt oder ganz unmöglich ist. Immerhin finden sich Tiere, bei deren Serum ein geringer Zusatz von Kaninchenserum stark milzbrandtötende Wirkung hervorbringt.

Tabelle VII.

| Meerschweinchenserum | E. | | F. | |
|---|---|---|---|---|
| | Einsaat | nach 4 Stdn. | Einsaat | nach 4 Stdn. |
| 1) 1 ccm Meerschweinchenserum | 2000 im Mittel | über 5000 | 848 im Mittel | über 4000 |
| 2) 1 „ „ + 0,1 ccm Kaninchenserum | | 2064 | | 0 |
| 3) 1 „ „ + 0,05 „ „ | | ca. 3000 | | 0 |
| 4) 1 „ „ + 0,01 „ „ | | — | | 0 |
| 5) 1 „ „ 1/2 St. 58° | | über 6000 | | ca. 4000 |
| 6) 1 „ „ 1/2 „ 58° + 0,1 ccm Kaninchenserum | | 3920 | | 0 |
| 7) 1 „ „ 1/2 „ 58° + 0,05 „ „ | | 6000 | | 12 |
| 8) 1 „ „ 1/2 „ 58° + 0,01 „ „ | | — | | 30 |

Die zunächst aus solchen Ergebnissen zu ziehende Folgerung lautet einfach dahin, daß das Bestehen der bloßen Ergänzungsfähigkeit eines Serums durch die im normalen Kaninchenserum enthaltenen Komplemente keinen einfachen Zusammenhang mit der natürlichen Milzbrandimmunität des betreffenden blutliefernden Tieres erkennen läßt.

---

## IV. Die Ergänzungsfähigkeit verschiedener Serumarten durch Leukocyten und Organzellen des Kaninchens.

Kaninchenserum stellt nicht die einzige Komplementquelle für Hunde- und Hühnerserum dar. Dazu sind ebensogut Kaninchenleukocyten (Bail, Pettersson) und gewisse Kaninchenorgane (Bail) zu gebrauchen. Wie nach dem Ausfall der Ergänzungsfähigkeit anderer tierischer Sera durch Kaninchenserum nicht anders zu erwarten war, liegen auch für diese analoge Verhältnisse vor.

Tabelle VIII.

Aus dem leukocytenreichen Exsudate eines 24 Stunden vorher mit Aleuronat intrapleural injizierten großen Kaninchens werden die Leukocyten durch Zentrifugieren isoliert, mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und in 6 Teile (jedes etwa den Leukocyten aus 3 ccm Vollexsudat entsprechend) geteilt. Dazu kommen je 2,5 ccm Hunde-, Ochsen-, Kalb-, Schwein- und Ziegenserum und peptonhaltige NaCl-Lösung. Nach sorgfältiger Verteilung der Zellen und 1 Stunde Aufenthalt bei 37° werden die Zellreste abzentrifugiert und die klaren „Extrakte“ verwendet.

| | | sofort | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|---|
| 1) 1 ccm Leukocytenextrakt mit Hundeserum | | 1251 im Mittel | 712 |
| 2) 1 „ „ „ „ | 1/2 St. 58° | | ca. 10 000 |
| 3) 1 „ „ „ Ochsenserum | | | 0 |
| 4) 1 „ „ „ „ | 1/2 „ 58° | | 4032 |
| 5) 1 „ „ „ Kalbserum | | | 0 |
| 6) 1 „ „ „ „ | 1/2 „ 58° | | 8800 |
| 7) 1 „ „ „ Schweineserum | | | 0 |
| 8) 1 „ „ „ „ | 1/2 „ 58° | | 2248 |
| 9) 1 „ „ „ Ziegenserum | | | 0 |
| 10) 1 „ „ „ „ | 1/2 „ 58° | | 8000 |
| 11) 1 „ „ „ NaCl-Lösung | | | ca. 4000 |
| 12) 1 „ „ „ „ | 1/2 „ 58° | | |

Alle Sera werden durch Zusatz von Kaninchenleukocyten wirksam. Das Hundeserum wurde in diesem Falle am wenigsten aktiviert und es ist bemerkenswert, daß auch die Milz des betreffenden Kaninchens nur sehr dürftig ergänzte (s. unten Tabelle IX). Bei allen Proben tritt die bereits früher[1]) erwähnte Thermolabilität der extrahierten Leukocytenkomplemente mehr oder weniger deutlich hervor.

Tabelle IX.

Organe des im Versuch der Tabelle VIII verwendeten Kaninchens. Das Gefäßsystem des möglichst vollständig entbluteten Tieres wird mit ca. 8 l physiologischer NaCl-Lösung ausgespült, die Organe zerrieben, in möglichst gleichen Teilen zu je 2,5 ccm Hunde-, Ochsen-, Schweineserum und peptonhaltiger NaCl-Lösung zugesetzt und 1 Stunde bei 37° belassen. Hierauf wurde die obenstehende, noch sehr zellreiche

---

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 610.

Flüssigkeit abgegossen und zur Einsaat verwendet. Zum Versuche wurden genommen: Milz, Knochenmark, Drüse (Pankreas Aselli), Thymus, Leber und Gehirn.

| | Einsaat | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum | 1251 im Mittel | über 10 000 |
| 2) 1 „ „ + 0,05 Kaninchenserum | | 3 |
| 3) (1 „ „ + 0,05 „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | 624 |
| 4) Milz in 1 ccm Hundeserum | | 2900 |
| 5) ( „ „ 1 „ „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | 3700 |
| 6) Knochenmark in 1 ccm Hundeserum | | über 10 000 |
| 7) ( „ „ 1 „ „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | |
| 8) Leber in 1 ccm Hundeserum | | über 10 000 |
| 9) ( „ „ 1 „ „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | |
| 10) 1 ccm Ochsenserum | | über 5000 |
| 11) 1 „ „ + 0,05 Kaninchenserum | | 24 |
| 12) (1 „ „ + 0,05 „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | 27 |
| 13) Milz in 1 ccm Ochsenserum | | 2 |
| 14) ( „ „ 1 „ „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | 320 |
| 15) Knochenmark in 1 ccm Ochsenserum | | 448 |
| 16) ( „ „ 1 „ „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | 544 |
| 17) Leber „ 1 „ „ | | 352 |
| 18) ( „ „ 1 „ „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | über 10 000 |
| 19) 1 ccm Schweineserum | | über 10 000 |
| 20) 1 „ „ + 0,05 Kaninchenserum | | 0 |
| 21) (1 „ „ + 0,05 „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | 26 |
| 22) Milz in 1 ccm Schweineserum | | 0 |
| 23) ( „ „ 1 „ „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | 0 |
| 24) Knochenmark in 1 ccm Schweineserum | | 120 |
| 25) ( „ „ 1 „ „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | 7 |
| 26) Leber in 1 ccm Schweineserum | | 0 |
| 27) ( „ „ 1 „ „ ) $^{1}/_{2}$ St. 58° | | über 10 000 |

Unwirksam in allen Seris waren Drüse, Thymus und Hirn. Kochsalzlösung mit oder ohne Organe und Serum lieferte 3—5000 Kolonieen.

Das Resultat dieser vergleichenden Versuche ist in hohem Grade auffallend. Hundeserum vermag, wie bereits früher angegeben wurde, nur mit der Milz des Kaninchens zusammen keimtötende Wirkung zu entfalten; von seltenen Fällen, wo sich auch nach Mischung mit Knochenmark eine geringe Aktivität ergab, abgesehen, übte der Zusatz von anderen Organzellen keinen ergänzenden Einfluß aus. Im Gegensatze dazu geben Rinder-, Schweine- und Hühnerserum mit Knochenmark und mit Leber mehr oder weniger deutliche abtötende Mischungen, die überdies meist durch Hitze nicht oder nicht vollständig zerstört werden. Das im Versuche der Tabelle X verwendete Kaninchen besitzt in seinem Serum offenbar kein oder nur sehr wenig thermostabiles Komplement; dennoch vermag Schweine-, Hunde- und Hühnerserum mit der Milz, Hühnerserum auch mit Knochenmark thermostabile Extrakte zu geben.

Offenbar spielen bei solchen Versuchen individuelle Verhältnisse der Versuchstiere eine ansehnliche Rolle.

Da aber bei einem und demselben Kaninchen die Milz mit allen untersuchten Seris, Knochenmark und Leber wohl mit Rinder-, Schweine- und Hühnerserum, nicht aber mit Hundeserum zusammen wirksam sind, so bleiben nur 2 Möglichkeiten offen: entweder besitzt das Kaninchen in Leber und Knochenmark ein eigenes Komplement, das auf den Immunkörper des Hundeserums nicht mehr paßt, oder es besitzt das Hundeserum überhaupt zu den Komplementen der Kaninchenorgane nur eine geringe Verwandtschaft, so daß nur bei der Anhäufung der beiden auch im Serum vorhandenen Komplemente Wirksamkeit eintritt. Die Erscheinung, daß die Kaninchenmilz im Hundeserum weniger

aktiv als z. B. im Rinderserum wird, scheint für die letztere Annahme zu sprechen.

Tabelle X.

In analoger Weise, wie der Versuch der Tabelle IX mit den Organen eines 24 Stunden vorher mit Aleuronat injizierten Kaninchen und Hunde-, Ochsen-, Hühner- und Schweineserum angestellt. In der Tabelle angeführt sind nur die mit wenigstens einem der Sera wirksamen Organe.

| | sofort | nach 4 Stdn. |
|---|---|---|
| 1) 1 ccm Hundeserum | | über 8000 |
| 2) 1 „ „ + 0,05 Kaninchenserum | | 23 |
| 3) (1 „ „ + 0,05 „ ) $^1/_2$ St. 58° | | über 8000 |
| 4) 1 „ Leukocytenextrakt mit Hundeserum | | 0 |
| 5) (1 „ „ „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | über 8000 |
| 6) Milz in 1 ccm Hundeserum | | 1120 |
| 7) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | 2464 |
| 8) Knochenmark in 1 ccm Hundeserum | | } |
| 9) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | } über 8000 |
| 10) Leber in 1 ccm Hundeserum | | } |
| 11) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | } |
| 12) 1 ccm Ochsenserum | | über 8000 |
| 13) 1 „ „ + 0,05 ccm Kaninchenserum | | 17 |
| 14) (1 „ „ + 0,05 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | über 8000 |
| 15) 1 „ Leukocytenextrakt mit Ochsenserum | | 0 |
| 16) (1 „ „ „ „ ) $^1/_1$ St. 58° | | 5928 |
| 17) Milz in 1 ccm Ochsenserum | | 28 |
| 18) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | über 8000 |
| 19) Knochenmark in 1 ccm Ochsenserum | | 112 |
| 20) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | über 8000 |
| 21) Leber in 1 ccm Ochsenserum | | 196 |
| 22) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | über 8000 |
| 23) 1 ccm Schweineserum | | über 8000 |
| 24) 1 „ „ + 0,05 ccm Kaninchenserum | | 42 |
| 25) (1 „ „ + 0,05 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | 4880 |
| 26) 1 ccm Leukocytenextrakt mit Schweineserum | | 30 |
| 27) (1 „ „ „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | über 8000 |
| 28) Milz in 1 ccm Schweineserum | | 1 |
| 29) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | 248 |
| 30) Knochenmark in 1 ccm Schweineserum | | 2416 |
| 31) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | über 8000 |
| 32) Leber in 1 ccm Schweineserum | | über 8000 |
| 33) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | über 8000 |
| 34) 1 ccm Hühnerserum | | 17 |
| 35) 1 „ „ + 0,05 Kaninchenserum | | über 8000 |
| 36) (1 „ „ + 0,05 „ ) $^1/_2$ St. 58° | | 0 |
| 37) 1 „ Leukocytenextrakt mit Hühnerserum | | 3696 |
| 38) (1 „ „ „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | 105 |
| 39) Milz in 1 ccm Hühnerserum | | 1040 |
| 40) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | 264 |
| 41) Knochenmark in 1 ccm Hühnerserum | | 808 |
| 42) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | 6000 |
| 43) Leber in 1 ccm Hühnerserum | | über 8000 |
| 44) ( „ „ 1 „ „ ) $^1/_2$ St. 58° | | |

Die entsprechenden Kontrollen (Organe in peptonhaltiger NaCl-Lösung) lieferten 3—8000 Kolonieen. Andere als die hier angeführten Organe waren wirkungslos.

Die Tatsache, daß Organe eines ausgebluteten Kaninchens in einer indifferenten Flüssigkeit stets ohne Wirkung auf Milzbrandbacillen bleiben, beweist, daß im Kaninchen nirgends Immunkörper und Komplement gleichzeitig in irgend höherem Grade in wirksamer Form vor-

handen sein können. Nur das Blut und in geringem Grade die polynukleären Leukocyten von Aleuronatexsudaten weisen dieses wirkungsvolle Nebeneinandervorkommen auf. Dieses für das Verständnis der natürlichen Empfänglichkeit wichtige Verhalten sei bereits hier festgestellt.

---

*Nachdruck verboten.*

# Untersuchungen über die verschiedenen Agglutinine des Typhusserums.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Universität Brüssel. Vorstand: Dr. Funck.]

Von Dr. **A. Joos.**

Das Studium der Agglutinine bildet fortwährend den Gegenstand der Untersuchungen für eine große Anzahl von Bakteriologen. Obwohl ihre Rolle in der Immunität noch wenig bekannt ist, sieht man doch aus der Menge von Arbeiten, welche sie täglich zum Vorschein bringt, das große Interesse, welches man ihr allseits entgegenbringt. Wir selbst haben seit mehreren Jahren versucht, etwas Licht in den Mechanismus dieses so interessanten Phänomens zu bringen und in mehreren Arbeiten nachgewiesen, daß die Agglutination das Ergebnis einer ganz bestimmten chemischen Verbindung sei, welche sich zwischen den agglutinierbaren Substanzen der Bacillen und der agglutinierenden Substanz des Serums vollzieht.

Hierauf unternahmen wir es, tiefer in das Problem einzudringen, um zu einer genaueren Kenntnis dieser Substanzen zu kommen.

In dieser Absicht begannen wir eine systematische Untersuchung des Typhusserums, welche zu dem Ergebnisse führte, daß die bisher unter dem Namen „Agglutinin“ bekannte Substanz in Wirklichkeit durch die Vereinigung mehrerer Körper gebildet ist, deren jeder ganz spezielle Eigenschaften besitzt. Diese Körper entsprechen gleichfalls bestimmten Teilen der Typhusbacillen und sind leicht voneinander zu unterscheiden, ja selbst zu trennen. Wir hatten die Hypothese von der mehrteiligen Beschaffenheit des Agglutinins schon in einem unserer früheren Aufsätze[1]) aufgestellt und werden nunmehr dartun, daß sich unsere Ansicht, welche damals noch ganz theoretisch und nicht durch experimentelle Untersuchungen unterstützt war, vollständig bewiesen hat.

Unsere Aufmerksamkeit wurde zunächst dadurch wachgerufen, daß in den Arbeiten verschiedener Autoren, welche denselben Gegenstand behandelten und anscheinend gleiche Versuche anstellten, die erlangten Resultate ganz verschiedene waren. Anfänglich glaubten wir, diese Verschiedenheiten in der Wirkung der angewandten Sera zuschreiben zu können; denn wenn man das Immunserum einer Bakterienaufschwemmung zusetzt, so bringt man mit dem Agglutinin mehr oder minder beträchtliche Mengen anderer, gleichfalls in dem Serum enthaltener Substanzen mit, welche unter gewissen Bedingungen auf die Vollziehung der Erscheinung störend einwirken können. Die Menge

---

1) Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination: Zweiter Teil. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL.)

dieser so eingeführten Substanzen ist für die sehr aktiven Sera ohne Bedeutung, sie ist aber wichtig und sehr bedeutend für die schwach agglutinierenden Sera. Wir müssen jedoch bemerken, daß, wenn die Vergleichung schwacher agglutinierender Sera mit anderen sehr starken die Wahrnehmung reeller Unterschiede in ihrer Wirkung gestatten, diese Unterschiede doch in den meisten Fällen nicht fühlbar genug sind, um die Widersprüche, welche in vielen Arbeiten zu Tage treten, zu erklären. Wir haben daraus angenommen, daß die agglutinierende Substanz nicht eine einzige Substanz, sondern daß sie im Gegenteil durch die Vereinigung mehrerer Körper gebildet sei. Je nach der angewandten Methode der Immunisation, nach dem Grade der Virulenz der Kulturen u. s. w. enthält das gewonnene Serum mehr oder weniger von der einen oder der anderen Substanz und besitzt infolgedessen besondere Eigenschaften.

Um die Anwesenheit dieser verschiedenen Agglutinine festzustellen, haben wir das Typhusserum verschiedenen Versuchen unterzogen und insbesondere zu erforschen gesucht, ob nicht die eine oder die andere Substanz durch eine Temperatur beeinflußt oder zerstört wird, welche auf die andere keine Wirkung ausübt. Wir werden im folgenden sehen, daß unsere Versuche in dieser Richtung von einem vollen Erfolge gekrönt worden sind.

Hierauf unternahmen wir analoge Experimente mit den Typhusbacillen. Von der Erkenntnis ausgehend, daß in dem Serum zwei verschiedene Agglutinine vorhanden sind, lag es nahe, anzunehmen, daß eine jede von ihnen durch die Gegenwart einer speziellen in den Bakterienleibern enthaltenen agglutinierbaren Substanz, welche den Tieren eingespritzt worden ist, hervorgerufen worden war. Diese Annahme wurde vollauf bestätigt, und wir waren in der Lage, in den Typhusbacillen zwei agglutinierbare Substanzen zu isolieren, welche leicht voneinander zu unterscheiden waren.

Wir haben im Verlaufe unserer Versuche die Sera angewandt, welche von den verschiedensten Tierarten stammten, nämlich Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen und Pferden. Die Tiere wurden durch lebende Typhuskulturen von mittlerer Virulenz (D † = $^4/_{10}$ — $^5/_{10}$ Oese) immunisiert, die Virulenz wurde während der ganzen Dauer der Immunisation durch den bekannten Vorgang der Passage in dem Organismus der Meerschweinchen konstant erhalten.

Der Agglutinationswert des Serums wurde jedesmal festgestellt, indem man in Reagenzgläsern gradatim steigende Serumdosen den Aufschwemmungen von Typhusbacillen in der physiologischen Lösung beimengte. Jedes Röhrchen enthielt in 10 ccm 1 Agarkultur von 24 Stunden und eine gewisse Menge Serum. Die so bereiteten Mischungen werden während 2 Stunden in den Brütschrank gestellt und nach $^1/_4$, $^1/_2$, 1 Stunde u. s. f. untersucht und sodann bis zum nächsten Tage der Temperatur des Laboratoriums überlassen. Der Wert der Serumverdünnung in dem Röhrchen, welches das Minimum enthält und wo die oben schwimmende Flüssigkeit kaum durchscheinend ist, wird zur Bezeichnung des Wertes des Serums angenommen. Ein Serum, welches bei $^1/_{20000}$ agglutiniert, ist dasjenige, von welchem 0,0005 genügt, um eine ganze, in 10 ccm physiologischem Wasser verdünnte Agarkultur zu agglutinieren. Eisenberg und Volk haben eine andere Messung angenommen. Sie verdünnen eine Kultur in 30 ccm Flüssigkeit und nehmen jene Serummenge als Einheit an, welche in 1 ccm dieser Mischung enthalten ist. Diese Methode gibt natürlich dem

Serum einen zwar sehr starken, jedoch nur scheinbaren Wert. Man weiß infolge der Versuche, worüber wir in unseren letzten Arbeiten berichtet haben, daß zwischen den Mengen agglutinierbarer und agglutinierender Substanz, welche sich verbinden können, eine begrenzte und beständige Wechselbeziehung besteht und daß diese Verbindung von der Dilution oder der Konzentration der Flüssigkeit unabhängig ist.

Um ein Beispiel zu geben, wollen wir in nachstehender Aufstellung diese Proportionalität nachweisen, indem wir dieselben Mengen von Serum 1) auf eine in 10 ccm physiologischer Lösung verdünnte Kultur, 2) auf eine in 30 ccm physiologischer Lösung verdünnte Kultur, 3) auf $^1/_3$ Kultur in 10 ccm derselben Lösung verdünnt einwirken lassen.

Tabelle I.

| Ser.-Menge | Emulsion: 1 Kultur in 10 ccm | | | | | 1 Kultur in 30 ccm | | | | | $^1/_3$ Kultur in 10 ccm | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 15 M. | 30 M. | 1 St. | 2 St. | 24 Std. | 15 M. | 30 M. | 1 St. | 2 St. | 24 Std. | 15 M. | 30 M. | 1 St. | 2 St. | 24 St. |
| 0,0002 | 0 | 0 | 0 | ± | Spur agglut. | 0 | 0 | 0 | 0 | Spur agglut. | 0 | ± | + | + | + |
| 0,0005 | 0 | ± | + | + | + | 0 | 0 | ± | + | + | ± | + | + | + | + |
| 0,001 | ± | + | + | + | + | 0 | ± | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 0,0025 | + | + | + | + | + | ± | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 0,005 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 0,01 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

Man sieht, daß der Agglutinationswert dieses Serums sehr verschieden ist, je nach der angewandten Bestimmungsmethode.

---

Wie oben gesagt, haben wir ein Pferd mittels lebender Kulturen von Typhusbacillen mittlerer Virulenz immunisiert. In kurzer Zeit lieferte uns dieses Pferd ein sehr aktives Serum, dessen Wert aus Tabelle II ersichtlich.

In einer ersten Reihe von Versuchen stellen wir in genauer Weise den Wert des nicht gewärmten, dann den Wert des auf verschiedene Temperaturen erwärmten Serums zunächst gegenüber den lebenden Typhusbacillen, sodann aber gegenüber demselben Typhus fest, welcher auf 60—62° erwärmt worden ist.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den 6 Tabellen II—VI und VIII verzeichnet.

Tabelle II.
Wertbestimmung des Pferdeserums.

| Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stunden | 24 Stund. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $^1/_{100000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Keine Agglutination |
| $^1/_{50000}$ | 0 | 0 | 0 | ± | + | leichte Agglutination |
| $^1/_{25000}$ | 0 | ± | + | + | + | fast vollkommene Agglut. |
| $^1/_{10000}$ | ± | + | + | + | + | vollkommene Agglutinat. |
| $^1/_{5000}$ | + | + | + | + | + | |
| $^1/_{2500}$ | + | + | + | + | + | |

Nach 24-stündiger Berührung werden die Gläser in die Zentrifuge gebracht, um den Bodensatz zu agglomerieren. Die oben schwimmende Flüssigkeit wird von dem Bodensatze agglutinierter Mikroben vorsichtig

abgegossen und dann mit einer neuen Typhuskultur gemengt, um zu untersuchen, ob das Gemenge nicht etwa agglutinierende Substanz im Ueberschusse enthält. Das Ergebnis ist jedoch ein negatives; in keinem der Röhrchen entsteht die geringste Spur von Agglutination; kein einziges enthält daher einen Ueberschuß an Agglutinin.

Ist der Wert des Serums einmal festgestellt, so setzen wir das Letztere — unserem vorgezeichneten Plane entsprechend — verschiedenen Temperaturen aus und suchen den Punkt zu gewinnen, bei welchem seine agglutinierende Kraft beeinflußt zu werden anfängt.

Wenn wir die Temperatur mehr und mehr erhöhen, so finden wir, daß die agglutinierende Kraft des Serums bis zu 60—62° vollständig intakt bleibt. Selbst wenn diese Temperatur durch 6 Stunden andauert, kann keine meßbare Veränderung wahrgenommen werden. Die Flockenbildung allein ist ein wenig verzögert.

Tabelle III.
Wertbestimmung des auf 60° erwärmten Pferdeserums.

| Serumverdünnung | Dauer der Erwärmung: 1 Stunde | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
| $^1/_{50000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | Spur von Agglutinat. |
| $^1/_{25000}$ | 0 | 0 | 0 | ± | + | leichte Agglutination |
| $^1/_{10000}$ | ± | ± | + | + | + | |
| $^1/_{5000}$ | + | + | + | + | + | |
| $^1/_{2000}$ | + | + | + | + | + | |

| Serumverdünng. | Dauer der Erwärmung: 3 Stunden | | | | | | 5 Stunden | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 15 M. | 30 M. | 1 Std. | 2 Std. | 24 Std. | Bemk. | 15 M. | 30 M. | 1 Std. | 2 Std. | 24 Std. | Bemk. |
| $^1/_{50000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | Spur v. Aggl. | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | Spur v. Aggl. |
| $^1/_{25000}$ | 0 | 0 | 0 | ± | + | | 0 | 0 | 0 | ± | + | |
| $^1/_{10000}$ | ± | ± | + | + | + | | ± | ± | + | + | + | |
| $^1/_{5000}$ | + | + | + | + | + | | + | + | + | + | + | |
| $^1/_{2000}$ | + | + | + | + | + | | + | + | + | + | + | |

Eine $1^1/_2$—2 Stunden erhaltene Temperatur von 65° ruft schon eine leichte Aenderung des Agglutinationswertes des Serums hervor, und bei 70° ist diese Aenderung bereits tiefgehend und vollzieht sich sehr rasch. Die nachstehenden Tabellen geben die Protokolle des Experiments. Bei 75° gibt es keine Spur von Agglutination mehr.

Tabelle IV.
Wertbestimmung des auf 65° erwärmten Pferdeserums.

| Serumverdünnung | Dauer der Erwärmung: 5 Minuten | | | | | 15 Minuten | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 15 M. | 30 M. | 1 Std. | 2 Std. | 24 Std. | 15 M. | 30 M. | 1 Std. | 2 Std. | 24 Std. |
| $^1/_{50000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| $^1/_{25000}$ | 0 | 0 | 0 | ± | + | 0 | 0 | 0 | ± | + |
| $^1/_{10000}$ | 0 | + | + | + | + | 0 | + | + | + | + |
| $^1/_{5000}$ | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| $^1/_{2000}$ | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

| Serum-verdünng. | Dauer der Erwärmung | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 30 Minuten | | | | | 1 Stunde | | | | | 1½ Stunden | | | | |
| | 15 M. | 30 M. | 1 St. | 2 St. | 24 St. | 15 M. | 30 M. | 1 St. | 2 St. | 24 St. | 15 M. | 30 M. | 1 St. | 2 St. | 24 St. |
| 1/50000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1/25000 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | 0 | 0 | 0 | 0 | Spur |
| 1/10000 | 0 | ± | + | + | + | 0 | ± | + | + | + | 0 | 0 | ± | + | + |
| 1/5000 | ± | + | + | + | + | ± | + | + | + | + | 0 | + | + | + | + |
| 1/2000 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | ± | + | + | + | + |

Tabelle V.

Wertbestimmung des auf 70° erwärmten Pferdeserums.

| Serumverdünnung | Dauer der Erwärmung | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 5 Minuten | | | | | 10 Minuten | | | | | 15 Minuten | | | | |
| | 15 Minuten | 30 Minuten | 1 Stunde | 2 Stunden | 24 Stunden | 15 Minuten | 30 Minuten | 1 Stunde | 2 Stunden | 24 Stunden | 15 Minuten | 30 Minuten | 1 Stunde | 2 Stunden | 24 Stunden |
| 1/50000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1/25000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1/10000 | 0 | ± | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1/5000 | ± | + | + | + | + | ± | ± | + | + | + | 0 | 0 | ± | + | + |
| 1/2000 | + | + | + | + | + | ± | + | + | + | + | ± | ± | + | + | + |
| 1/1000 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1/500 | | | | | | | | | | | | | | | |

| Serumverdünnung | Dauer der Erwärmung | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 20 Minuten | | | | | 30 Minuten | | | | | 1 Stunde | | | | |
| | 15 Minuten | 30 Minuten | 1 Stunde | 2 Stunden | 24 Stunden | 15 Minuten | 30 Minuten | 1 Stunde | 2 Stunden | 24 Stunden | 15 Minuten | 30 Minuten | 1 Stunde | 2 Stunden | 24 Stunden |
| 1/50000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1/25000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1/10000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1/5000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1/2000 | 0 | ± | + | + | + | 0 | 0 | 0 | ± | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1/1000 | | | | | | | | | | | 0 | ± | + | + | + |
| 1/500 | | | | | | | | | | | | | | | |

Aus dem Vorhergesagten ergibt sich, daß das Typhusserum während einer Stunde auf 60—62° erwärmt werden kann, ohne daß sein Agglutinationsvermögen für die Typhusbacillen vermindert wird.

Nunmehr wollen wir den Wert desselben Pferdeserums erst ungewärmt, dann gewärmt gegenüber einer Typhuskultur feststellen, welche ihrerseits selbst auf eine Temperatur von 60—62° gebracht wurde. Dabei bedienen wir uns natürlich desselben Verfahrens wie im Vorhergehenden: 1 ganze Agarkultur in etwas physiologischer Lösung aufgeschwemmt und während 1 Stunde auf 60—62° gebracht, wird mit Serum und einer hinreichenden Menge physiologischer Lösung zusammengebracht, so daß das Ganze 10 ccm ausmacht.

Tabelle VI.
Agglutinationswert für die erwärmten Typhusbacillen (1 Stunde bei 60—62°).

| Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1/10000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 1/5000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 1/2000 | 0 | 0 | ± | ± | + | unvollkommene Agglutin. |
| 1/1000 | 0 | ± | + | + | + | vollkommene Agglutinat. |
| 1/500 | + | + | + | + | + | |

Wir sehen, daß dieses Serum bei 1/2000 nur eine langsame und unvollständige Agglutination hervorruft; sie ist dagegen bei 1/1000 rasch und vollständig. Nachdem das Gemenge 2 Stunden in dem Brütschranke geblieben und sodann während 24 Stunden der Temperatur des Laboratoriums ausgesetzt worden ist, wird dasselbe zentrifugiert. Sobald die agglutinierten Bacillen sich auf dem Boden des Glases agglomeriert haben, wird die oben schwimmende Flüssigkeit vorsichtig abgegossen und mit einem Zusatze neuer, bei 60—62° getöteter Typhusemulsion gemengt, um zu sehen, ob sie nicht einen Ueberschuß von Serum enthält. Dies ist der Fall nicht. Es zeigt sich keine Agglutination; die beigefügten, erwärmten Typhusbacillen bleiben in der Schwebe und die Flüssigkeit bildet eine ganz homogene Emulsion. Es bilden sich weder Flocken noch Niederschlag. In keinem der Gläser befindet sich also Serum im Ueberschusse.

Nun bereiten wir ein zweites Mal dieselben Mischungen, aber nach der Vollziehung der Agglutination ändern wir ein wenig die Bedingungen des Experimentes. Nachdem wir die oben schwimmende Flüssigkeit von dem Bodensatze der agglutinierten und durch Zentrifugation agglomerierten Bacillen dekantiert haben, setzen wir derselben nicht eine auf 60—62° erwärmte, sondern eine normale gewöhnliche Typhuskultur zu.

Die Ergebnisse des Versuches sind alsdann ganz andere: Wir sehen in der Tat in allen Gläsern eine reichliche Agglutination sich vollziehen.

Es zeigt sich also, daß dieselbe oben schwimmende Flüssigkeit mit Leichtigkeit lebende (oder auf gewaltsame Weise, z. B. durch Chloroform, Formol u. s. w. getötete) Bacillen agglutiniert, daß sie jedoch nicht im stande ist, dieselbe Wirkung in einer auf 60—62° getöteten Bacillenaufschwemmung hervorzubringen. Dieser Umstand ist von größter Wichtigkeit, denn es folgt daraus, daß die erwärmten Typhusbacillen, mit Typhusserum in Verbindung gebracht, diesem Serum eine Substanz entzogen haben (da sie sich agglutinierten) und daß sie zugleich eine andere, ohne Verwendung gebliebene Substanz in der Lösung zurückgelassen haben. Dies zeigt uns, daß die Einspritzung intakter Bacillen im tierischen Organismus die Bildung zweier verschiedener agglutinierender Substanzen hervorruft, deren eine eine gewisse Affinität zu den auf 60—62° erwärmten Typhusbacillen aufweist, während die andere keine solche Affinität für diese besitzt, wohl aber sich energisch mit der nicht durch Wärme alterierten agglutinierbaren Substanz verbindet. Wir nehmen daher an, daß der bisher unter dem Namen: „agglutinierbare Substanz“ bekannte Körper nicht aus einem einzigen Körper, sondern zum mindesten aus 2 Konstituenten besteht. Ihre Einführung in den tierischen Organismus produziert zwei vollkommen voneinander verschiedene Antikörper. Die Gegenwart dieser

zwei Antikörper wird durch den vorigen Versuch bewiesen, welcher uns zeigt, daß die Flüssigkeiten, in welchen eine auf 60—62° gewärmte Typhusemulsion sich agglutiniert hat, noch Agglutinin enthält, aber ein Agglutinin von ganz besonderer Art, ohne jede Affinität für die auf 60° erwärmte Mikrobensubstanz, wohl aber viel Avidität besitzt für die unalterierte agglutinierbare Substanz.

Um die verschiedenen Agglutinine voneinander zu unterscheiden, bezeichnen wir sie mit den Buchstaben $\alpha$ und $\beta$. Das $\alpha$-Agglutinin ist dasjenige, welches sich mit der nicht alterierten agglutinierbaren Substanz verbindet, das $\beta$-Agglutinin hingegen ist jenes, welches noch Agglutination der auf 60° erwärmten Typhusbacillen hervorzubringen vermag.

Wir wollen für den Augenblick nur einige Worte sagen bezüglich der zweiten Tatsache, auf welche wir eben aufmerksam gemacht haben, nämlich auf die Gegenwart zweier agglutinierbarer Substanzen in den lebenden Typhusbacillen. Wir werden erst weiter unten auf dieselbe im Detail zurückkommen. Wir wollen indessen bemerken, daß es logisch ist, a priori die Existenz dieser beiden Substanzen anzunehmen, da es äußerst schwierig ist, daß die Einspritzung einer einzigen Substanz im Organismus nicht zwei verschiedene Antikörper produziert.

Der Versuch VI, ergänzt durch die Prüfung der oben schwimmenden Flüssigkeit, zeigt auch die Gegenwart dieser zwei agglutinierbaren Substanzen der Typhusbacillen, deren eine einer Temperatur von 60° widersteht und eine besondere Affinität für das $\beta$-Agglutinin besitzt, während die andere bei dieser Temperatur zerstört wird und leicht durch das $\alpha$-Agglutinin zum Niederschlag gebracht wird. Für den Augenblick setzen wir unsere Untersuchung der agglutinierenden Substanz fort, um ihre innere Zusammensetzung genauer kennen zu lernen.

In einem neuen Versuche wollen wir nach der Ehrlichschen Absorptionsmethode die Menge von Agglutinin feststellen, die sich in der Flüssigkeit befindet, welche über dem Bodensatze der auf 60° erwärmten und agglutinierten Bacillen oben schwimmt. Zu diesem Zwecke setzen wir einer Aufschwemmung von auf 60—62° erwärmten Typhusbacillen eine solche Menge spezifischen Serums zu, daß das Gemenge kein $\beta$-Agglutinin im Ueberschusse enthält. Nach 24 Stunden wird das Ganze zentrifugiert und die oben schwimmende Flüssigkeit dekantiert. Sodann fügen wir die physiologische Kochsalzlösung in hinreichender Menge bei, um die ursprünglich in dem Gemenge enthalten gewesene Serummenge auf $^1/_{20000}$, $^1/_{10000}$, $^1/_{5000}$ u. s. w. zu verdünnen; in 10 ccm solcher Lösung erhielten wir eine Typhuskultur. In Tabelle VII sehen wir,

Tabelle VII.

| Verdünnung des ursprünglichen Serums | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $^1/_{20000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | + | Die Agglutination vollzieht sich ein wenig langsamer als in den korrespondierend. Verdünnungen, welche nicht erst erwärmte Typhusbacillen agglutiniert haben |
| $^1/_{10000}$ | 0 | 0 | ± | + | + | |
| $^1/_{5000}$ | 0 | ± | + | + | + | |
| $^1/_{2000}$ | ± | + | + | + | + | |

daß wir bei $^1/_{20000}$ eine langsame und unvollständige, bei $^1/_{10000}$ aber eine rasche und reichliche Agglutination erhalten. In allen Gläsern aber bleibt die oben schwimmende Flüssigkeit leicht getrübt.

Wenn man diese Resultate nur superfiziell überblickt, scheint daraus hervorzugehen, daß die auf 60—62° erwärmte Typhuskultur zu ihrer Agglutination nur einen geringen Teil der agglutinierenden Substanzen gebraucht hat, welche in dem Serum zu seiner Verfügung waren. Wir wissen jedoch infolge des früheren Versuches, daß er die ganze agglutinierende Substanz, welche er zu binden vermochte (nämlich das ganze $\beta$-Agglutinin), gebunden hat, und daß diejenige, welche in der Lösung übrig geblieben ist, keine Wirkung mehr auf ihn ausübt. Nebenbei wollen wir bemerken, daß, welche Quantität von Serum immer man den erwärmten Bacillen zusetzt, diese stets das ganze $\beta$-Agglutinin bindet. Selbstverständlich darf man nicht einen Ueberschuß an Serum zusetzen, denn es besteht ein Sättigungspunkt, über welchen hinaus der Ueberschuß an $\beta$-Agglutinin in Lösung bleiben und das Ergebnis des Versuches verfälschen würde. Wenn man im selben Grade (so daß z. B. 1 ccm Flüssigkeit 0,001 Serum enthält) die Flüssigkeiten verdünnt, welche oberhalb der Niederschläge erwärmter, agglutinierter Typhusbacillen schwimmen und aus Röhrchen entstammen, von denen die eine eine Serummenge enthält, welche genügt, um die erwärmten Bacillen zum Niederschlage zu bringen, während die anderen eine teilweise Niederschlag hervorbringende Menge enthalten, so können wir konstatieren, daß alle diese Flüssigkeiten die lebenden Typhusbacillen gleichwertig agglutinieren, und daß infolgedessen sich die bei 60—62° widerstehende agglutinierbare Substanz in keinem Falle mit dem $\alpha$-Agglutinin verbindet.

---

Einer der am Anfange dieses Aufsatzes angeführten Versuche hat ergeben, daß die Agglutinationskraft des Typhusserums gegenüber dem normalen Typhusbacillen in keiner Weise durch eine bis zu 60—62° fortgesetzte Erwärmung beeinflußt wird. Nunmehr wissen wir, daß diese Erscheinung auf der Eigentümlichkeit des $\alpha$-Agglutinins, dieser Temperatur leicht Widerstand zu leisten, beruht.

Zur Vollständigkeit erübrigt uns noch, zu untersuchen, in welcher Weise sich dieses nämliche erwähnte Serum gegenüber den gleichfalls vorher erwärmten Typhusbacillen verhält. Durch Erwärmung dieser Bacillen zerstören wir ihre daselbst enthaltene labile agglutinierbare

Tabelle VIII.

Pferdeserum, 1 Stunde bei 60—62° erwärmt + Typhusemulsion, 1 Stunde bei 60—62° erwärmt.

| Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $^1/_{20000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| $^1/_{10000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| $^1/_{5000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| $^1/_{2000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| $^1/_{1000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| $^1/_{500}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| $^1/_{100}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| $^1/_{10}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

Substanz und die Aufschwemmung enthält nur die thermostabile agglutinierbare Substanz. Das Ergebnis dieses Versuches ist ein negatives, es vollzieht sich keine Agglutination, wie aus der folgenden Tabelle erhellt.

Wir können demgemäß sagen, daß das $\beta$-Agglutinin durch die Erwärmung auf 60—62°, wenn nicht zerstört, so doch sehr bedeutend alteriert wird. Welcher Art immer die Modifikation sein mag, welche es durch die Einwirkung der Wärme erlitten hat und worüber wir uns an dieser Stelle nicht weiter aussprechen wollen, so sehen wir immerhin, daß es eine seiner fundamentalen Eigenschaften verloren hat, nämlich die, mit den erwärmten Bacillen eine niederschlagbare Verbindung einzugehen. Wir werden in der Folge sehen, daß das $\beta$-Agglutinin nicht nur nicht zerstört worden ist, sondern daß es sogar seine Fähigkeit, sich mit der agglutinierbaren Substanz der Mikroben zu verbinden, intakt erhalten hat, und daß es nur die letzteren nicht mehr zum Niederschlage bringen kann. Ob ihre haptophore Gruppe intakt geblieben ist, wissen wir noch nicht, aber wir sehen klar, daß ihre funktionelle Gruppe eine große Schädigung erlitten hat. Dagegen muß das $\alpha$-Agglutinin, welches merklich widerstandsfähiger ist, in der Lösung alle seine Eigenschaften behalten haben. Der Zusatz einer gewöhnlichen Kultur Eberthscher Bacillen muß daher, je nach dem Grade der Verdünnung, eine mehr oder minder kräftige Agglutination ergeben. Wenn wir das Serum nach dem beim Versuche VII angegebenen Vorgange verdünnen, so können wir feststellen, welche Menge von Agglutinin in der Lösung zurückgeblieben ist (Tabelle IX).

Tabelle IX.

Obenschwimmende Flüssigkeit des Exp. VIII + 1 Typhuskultur.

| Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1/20000 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | |
| 1/10000 | 0 | 0 | ± | + | + | |
| 1/5000 | 0 | ± | + | + | + | |
| 1/2500 | ± | + | + | + | + | |
| 1/1000 | + | + | + | + | + | |

Auch hier bestätigt der Versuch unsere Vorannahme. Die Agglutinationskraft der Flüssigkeit ist ebenso energisch wie diejenige, welche beobachtet wird, wenn man die nicht durch Wärme alterierten Typhusbacillen der Flüssigkeit beisetzt, in welcher sich erwärmte Bacillen bereits agglutiniert haben (Versuch VII). Im ersten Augenblicke scheint das $\beta$-Agglutinin daher durch die Erwärmung auf 60—62° zerstört worden zu sein. Wir haben jedoch bereits gesagt und werden im folgenden beweisen, daß dies nicht der Fall ist: Die Erwärmung alteriert das $\beta$-Agglutinin nur leicht; seine Fähigkeit, sich mit erwärmten Bacillen zu verbinden, geht dadurch nicht verloren, aber sie wird unfähig, dieselben niederzuschlagen: seine haptophore Gruppe bleibt unverändert, seine funktionelle Gruppe allein wird geschädigt.

Sohin wollten wir feststellen, welche Erscheinungen ein viel minder aktives Serum unter denselben Umständen aufweist. Das vorhin angewandte Pferdeserum besaß eine nicht gewöhnliche Wirksamkeit und wie solche selten in dem Serum gefunden wird, welches von kleinen, gegen Typhusbacillen immunisierten Tieren, wie Meerschweinchen und Kaninchen, herrührt. Da dieses letztere, im allgemeinen wenig aktive Immunserum in den Laboratorien sehr häufig angewendet wird, hielten wir es für wesentlich, darüber eine besondere Untersuchung an-

zustellen. Demgemäß haben wir bei einer anderen Reihe von Versuchen, welche im übrigen den vorher erwähnten ganz gleich waren, ein vom Blute immunisierter Meerschweinchen stammendes, wenig aktives Serum verwendet. Diese Tiere wurden mit lebenden, jedoch wenig virulenten Kulturen von Typhusbacillen (D † = $^{8}/_{10}$ Oese) behandelt. Sie erhielten vom 12. Mai bis 8. Juli 7 Injektionen, hierauf wurde die Immunisation während dreier Monate eingestellt. Am 10. Oktober 1902 wurde den Tieren aus der Carotis Blut entnommen. Die agglutinierende Kraft ihres Serums ist in der folgenden Tabelle dargestellt:

Tabelle X.
Wertbestimmung des Meerschweinchenserums.

| Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $^{1}/_{2000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | + | Spur Agglutination |
| $^{1}/_{1000}$ | 0 | 0 | ± | + | + | leichte Agglutination |
| $^{1}/_{500}$ | ± | + | + | + | + | |
| $^{1}/_{250}$ | + | + | + | + | + | fast vollkommene Agglut. |
| $^{1}/_{100}$ | + | + | + | + | + | vollkommene Agglutinat. |
| $^{1}/_{50}$ | + | + | + | + | + | |

Wie man hieraus ersieht, ist die Wirksamkeit dieses Serums viel geringer als die der früher untersuchten.

Dem uns vorgezeichneten Wege folgend, wollen wir nun den Wert dieses Serums feststellen, nachdem es während 1 Stunde einer Temperatur von 60—62° ausgesetzt war. Wir konstatieren dabei, daß seine agglutinierenden Eigenschaften durch diese Erwärmung nicht gelitten haben. Es verhält sich daher genau so, wie das vorher untersuchte Pferdeserum. Tabelle XI bildet das Protokoll dieses Versuches.

Tabelle XI.
Wertbestimmung des auf 60—62° erwärmten Meerschweinchenserums.

| Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $^{1}/_{2000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Die obenschwimmende Flüssigkeit bleibt in allen Röhrchen leicht getrübt |
| $^{1}/_{1000}$ | 0 | 0 | 0 | ± | + | |
| $^{1}/_{500}$ | ± | + | + | + | + | |
| $^{1}/_{250}$ | + | + | + | + | + | |
| $^{1}/_{100}$ | + | + | + | + | + | |
| $^{1}/_{50}$ | + | + | + | + | + | |

Hierauf suchen wir, ganz wie früher bei dem Pferdeserum, den agglutinierenden Wert dieses nicht erwärmten Meerschweinchenserums gegenüber den während einer Stunde auf 60—62° erwärmten Typhusbacillen.

Tabelle XII zeigt, daß die agglutinierenden Eigenschaften dieses Serums gegenüber den erwärmten Typhusbacillen sehr schwach sind. Wir können daher hier eine Erscheinung beobachten, welche identisch mit derjenigen ist, die wir bei den mit dem Pferdeserum angestellten Versuchen wahrgenommen haben. Dieses Immunserum scheint gegenüber den erwärmten Typhuskulturen nur eine äußerst beschränkte Wirksamkeit zu besitzen. Die Agglutination vollzieht sich mit denselben nur äußerst schwer und langsam, ganz so, als ob diese Bacillen einer

Tabelle XII.

Meerschweinchenserum + auf 60—62° erwärmter Typhusbacillen.

| Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1/1000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 1/500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 1/250 | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | Spur von Agglutination |
| 1/100 | 0 | 0 | 0 | ± | + | unvollkommene Agglutin. |
| 1/50 | 0 | ± | + | + | + | fast vollkommene Agglut. |

viel größeren Serummenge bedürften, als normale Bacillen. Wir wissen aber bereits, daß dem nicht so ist, und um dies zu beweisen, genügt im vorliegenden Falle die Zentrifugation dieser verschiedenen Gemenge, bis die agglutinierten Bakterien agglomeriert sind, und dann die oben schwimmende Flüssigkeit zu prüfen nach der vorher angegebenen Methode. Wir können hierbei konstatieren, daß die Flüssigkeit für die normalen Typhusbacillen vollkommen wirksam bleibt.

Tabelle XIII.

Obenschwimmende Flüssigkeit des Exper. XII + 1 Typhuskultur.

| Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1/2000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Die obenschwimmenden Flüssigkeiten bleiben getrübt |
| 1/1000 | 0 | 0 | 0 | ± | + | |
| 1/500 | 0 | 0 | ± | + | + | |
| 1/250 | 0 | ± | + | + | + | |
| 1/100 | + | + | + | + | + | |
| 1/50 | + | + | + | + | + | |

Endlich bringen wir erwärmtes Serum mit gleichfalls erwärmten Bacillen in Berührung. Wie infolge der unter denselben Bedingungen mit dem Pferdeserum erhaltenen Resultate vorauszusehen war, vollzieht sich in diesem Falle keine Agglutination.

Fügt man dagegen dieser Mischung unerwärmte Bacillen bei, so zeigt sich — je nach dem Grade der Verdünnung der Aufschwemmung — eine mehr oder minder rasche und vollständige Agglutination.

Wir finden also in diesem Meerschweinchenserum die agglutinierenden Substanzen $\alpha$ und $\beta$ wieder, auf welche wir bei dem sehr aktiven Pferdeserum aufmerksam gemacht haben. Abgesehen von dem großen Unterschiede des agglutinierenden Wertes dieser beiden Sera, zeigt sich gar keine Verschiedenheit in ihrer Wirkungsart. Beide Reihen von Versuchen ergeben, daß beide Sera, so verschieden auch ihre Wirksamkeit sein mag, auf die Mikroben in derselben Weise einwirken und die gleichen Elemente enthalten.

---

Aus den erwähnten Versuchen können wir folgern, daß die agglutinierbare Substanz der Mikroben und die agglutinierende Substanz des Serums nicht einheitliche Körper sind, sondern daß sie durch die Vereinigung mehrerer verschiedener Körper gebildet sind.

In der agglutinierbaren Substanz der Mikroben haben wir zwei Körper gefunden, welche wir, um sie voneinander zu unterscheiden, mit dem Namen $\alpha$-Agglutinogen und $\beta$-Agglutinogen bezeichnen wollen.

Das $\alpha$-Agglutinogen ist die labile Substanz, die bei 60—62° rasch zerstört wird. Ihr sind bei der Verbindung mit dem Agglutinin die charakteristischen groben Flocken bei der Agglutination zuzuschreiben. Sie sind der Hauptbestandteil der lebenden Bacillen.

Das $\beta$-Agglutinogen ist die Substanz, welche der Wärme widersteht. Sie erzeugt die feinen Klümpchen und den dichten, bisweilen etwas schleimigen Bodensatz, der sich in den erwärmten Aufschwemmungen von Typhusbacillen bildet, wenn man intaktes Typhusserum zusetzt.

Diese beiden Substanzen existieren nebeneinander in den Typhusbacillen. Daher läßt die Immunisation durch lebende oder allmählich (durch Chloroform, Toluol u. s. w.) getötete Bacillen in dem Blute der Tiere zwei spezifische Antikörper entstehen:

1) Das $\alpha$-Agglutinin, welches der Wärme leicht widersteht. Es erleidet keine Veränderung bei 60—62° und beginnt erst bei ziemlich lange (1 1/2 Stunden) fortgesetzter Erwärmung auf 65° eine Veränderung zu erfahren, welche bei 70° rasch und tiefeingreifend wird. Bei 75° erleidet sie eine sehr schnelle Zerstörung. Diese Substanz besitzt eine besondere Affinität zur agglutinierbaren Substanz des Mikroben, welche wir mit dem Namen $\alpha$-Agglutinogen bezeichnet haben.

2) Das $\beta$-Agglutinin, welches sich bei 60—62° modifiziert. Es besitzt eine spezielle Affinität für das $\beta$-Agglutinogen, kann sich aber auch, wie wir bald sehen werden, mit dem $\alpha$-Agglutinogen verbinden. Es wird nicht bei 60—62° zerstört, aber erleidet bei dieser Temperatur eine Beschädigung in dem Sinne, daß es die Fähigkeit verliert, das $\beta$-Agglutinogen als eine unlösliche Verbindung niederzuschlagen.

Diese Theorie zweier verschiedener agglutinierbarer und agglutinierender Substanzen scheint mit gewissen tatsächlichen Erfahrungen im Widerspruche zu stehen. Wir haben im Anfange dieser Abhandlung gesehen, daß ein Serum, welches Bacillen agglutiniert hat, die auf 60° erwärmt waren, die normalen Typhusbacillen fast ebenso energisch agglutiniert, wie dasselbe Serum im intakten Zustande. Man könnte sagen, daß hier eine Anomalie besteht. Sollte sich in der Tat ein Serum, dem ein Teil seiner aktiven Substanz entzogen worden, nicht gegenüber den Typhusbacillen von demselben intakt gebliebenen Serum unterscheiden?! Dies kommt daher, daß die Wirkungen der beiden Agglutinine, wie wir später sehen werden, sich nicht addieren, und daß die Menge von $\beta$-Agglutinogen, welche sich normalerweise in den Typhusbacillen vorfindet, immer sehr gering ist.

---

Wie wir im vorigen gesehen haben, wird das $\alpha$-Agglutinogen durch Erwärmung auf 60—62° leicht zerstört; es erübrigt sich noch der Versuch der Immunisierung eines Tieres mit dem $\beta$-Agglutinogen allein, was wir leicht erreichen, indem wir ihm graduell Kulturen einspritzen, welche auf 60—62° erwärmt und getötet worden waren. Das Serum eines so behandelten Tieres darf lediglich nur $\beta$-Agglutinin enthalten und wird frei von $\alpha$-Agglutinin sein. Der Versuch bestätigt diese Angaben ganz genau.

Wir haben Kaninchen immunisiert, indem wir ihnen in die Bauchhöhle gradatim gesteigerte Typhuskulturen einspritzten, welche durch 1-stündige Erwärmung anf 60—62° getötet worden waren. Im nachstehenden geben wir das Protokoll dieser Immunisierung:

Tabelle XIV.

| Datum | Einspritzungen | Körpergewicht |
|---|---|---|
| 18. X. 1902 | $\frac{1}{2}$ Kultur | 2030 g |
| 31. X. 1902 | $\frac{3}{4}$ „ | 2110 „ |
| 8. XI. 1902 | $\frac{3}{4}$ „ | 2080 „ |
| 15. XI. 1902 | 1 „ | 2080 „ |
| 22. XI. 1902 | 1 „ | 2120 „ |
| 1. XII. 1902 | werden 50 ccm Blut aus der Carotis entnommen u. geprüft | |

10 Tage nach der letzten Einspritzung haben wir der Carotis 50 ccm Blut entnommen und nach dessen Gerinnung das Serum dekantiert. Nach einigen Tagen Aufenthalt in der Temperatur des Laboratoriums untersuchten wir zunächst seinen agglutinierenden Wert für die normalen und dann für die auf 60—62° erwärmten Typhusbacillen.

Tabelle XV.
Kaninchenserum + lebende Typhusemulsion.

| | Serum-verdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | $^1/_{5000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 2 | $^1/_{2500}$ | 0 | 0 | ± | + | + | unvollkommene Agglut. |
| 3 | $^1/_{1000}$ | 0 | ± | ± | + | + | fast vollkommene Aggl. |
| 4 | $^1/_{500}$ | ± | ± | + | + | + | |
| 5 | $^1/_{250}$ | ± | + | + | + | + | |
| 6 | $^1/_{100}$ | + | + | + | + | + | Spur Ser. im Ueberschuß |
| 7 | $^1/_{50}$ | + | + | + | + | + | Serum im Ueberschuß |

Tabelle XVI.
Kaninchenserum + bei 60—62° erwärmter Typhusemulsion.

| | Serum-verdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | $^1/_{5000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 2 | $^1/_{2500}$ | 0 | 0 | 0 | ± | + | unvollkommene Agglut. |
| 3 | $^1/_{1000}$ | 0 | 0 | ± | + | + | fast vollkommene Aggl. |
| 4 | $^1/_{500}$ | 0 | ± | ± | + | + | |
| 5 | $^1/_{250}$ | ± | + | + | + | + | |
| 6 | $^1/_{100}$ | ± | + | + | + | + | Spur Ser. im Ueberschuß |
| 7 | $^1/_{50}$ | + | + | + | + | + | Serum im Ueberschuß |

Ein Vergleich dieser beiden Tabellen ergibt, daß dieses Serum sich vollständig von dem Pferde- und Meerschweinchenserum unterscheidet, welches wir vorhin untersucht haben. Die agglutinierende Kraft ist hier die gleiche für lebende und für erwärmte Bacillen. Nur das Aussehen des Niederschlages ist verschieden. Derselbe erfolgt bei den lebenden Bacillen in großen Flocken, während die getöteten Bacillen nur feine Klümpchen bilden, welche langsam auf den Boden des Glases sinken, wo sie eine ziemlich kompakte Masse bilden. Wir wissen bereits, daß der Niederschlag in groben Flocken stets der Verbindung der agglutinierenden Substanz mit dem $\alpha$-Agglutinogen zuzuschreiben ist. Das Aussehen des Niederschlages und die Bedingungen, unter welchen er sich vollzieht, erlauben uns vorauszusetzen, daß das $\beta$-Agglutinin, welches sich (infolge der Immunisierung selbst) allein in dem Serum vorfindet, sich, je nach

Umständen, mit dem $\alpha$- oder aber mit dem $\beta$-Agglutinogen verbinden kann.

Wir haben auch untersucht, ob nicht das eine oder andere der bei den Versuchen XV und XVI erhaltenen Gemenge einen Ueberschuß an Serum enthalte. Deshalb zentrifugieren wir beide Reihen von Gläsern, bis wir die oben schwimmenden Flüssigkeiten leicht dekantieren können, setzten somit den letzteren eine erwärmte Typhuskultur zu und beobachten die Gläser, in denen sich eine Agglutination vollzieht, und welche infolgedessen einen Ueberschuß an Serum enthalten. Dies ist nur in den Gläsern 6, 6', 7, 7' der Fall.

Tabelle XVII.

| | Oben schwimmende Flüssigk. des Exper. XV | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|
| 1 | $^1/_{5000}$ | mit einer auf 60—62° erwärmten Typhuskultur gemengt | keine Agglutination |
| 2 | $^1/_{2500}$ | | " " |
| 3 | $^1/_{1000}$ | | " " |
| 4 | $^1/_{500}$ | | " " |
| 5 | $^1/_{250}$ | | " " |
| 6 | $^1/_{100}$ | | leichte u. unvollk. Ag. |
| 7 | $^1/_{50}$ | | starke Agglutination |

Tabelle XVIII.

| | Oben schwimmende Flüssigk. des Exper. XVI | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|
| 1' | $^1/_{5000}$ | mit einer auf 60—62° erwärmten Typhuskultur gemengt | keine Agglutination |
| 2' | $^1/_{2500}$ | | " " |
| 3' | $^1/_{1000}$ | | " " |
| 4' | $^1/_{500}$ | | " " |
| 5' | $^1/_{250}$ | | " " |
| 6' | $^1/_{100}$ | | leichte Agglutinat. |
| 7' | $^1/_{50}$ | | starke " |

In einem anderen Versuche wollen wir feststellen, welche Gemenge fähig sind, eine beigefügte normale Typhuskultur zur Agglutination zu bringen.

Zu diesem Zwecke zentrifugieren wir nach erfolgter Agglutination (erzeugt wie in Versuch XV und XVI) und setzen der oben schwimmenden Flüssigkeit eine lebende Kultur von Typhusbacillen zu. Auch hier vollzieht sich Agglutination in den Gläsern 6, 6', 7, 7'. Wir bemerken also, daß die oben schwimmenden Flüssigkeiten, welche den lebenden Typhus agglutinieren, genau dieselben sind, welche den erwärmten Typhus agglutinieren.

Tabelle XIX.

| | Oben schwimmende Flüssigk. des Exper. XV | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|
| 1 | $^1/_{5000}$ | mit einer lebenden Typhuskultur gemengt | keine Agglutination |
| 2 | $^1/_{2500}$ | | " " |
| 3 | $^1/_{1000}$ | | " " |
| 4 | $^1/_{500}$ | | " " |
| 5 | $^1/_{250}$ | | " " |
| 6 | $^1/_{100}$ | | leichte " |
| 7 | $^1/_{50}$ | | starke " |

Tabelle XX.

| | Oben schwimmende Flüssigk. des Exper. XVI | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|
| 1' | $^1/_{5000}$ | mit einer lebenden Typhuskultur gemengt | keine Agglutination |
| 2' | $^1/_{2500}$ | | " " |
| 3' | $^1/_{1000}$ | | " " |
| 4' | $^1/_{500}$ | | " " |
| 5' | $^1/_{250}$ | | " " |
| 6' | $^1/_{100}$ | | leichte " |
| 7' | $^1/_{50}$ | | starke " |

Wenn wir die Ergebnisse dieser letzten Experimente betrachten, so konstatieren wir, daß die Gläser 6, 6', 7, 7' überall einen Ueberschuß an Serum enthalten und daß dieser Ueberschuß derselbe bleibt, gleichviel ob die Bacillen lebend oder vorher auf 60—62° erwärmt sind. Dieses Kaninchenserum verbindet sich also in denselben Proportionen mit den normalen und mit den erwärmten Typhusbacillen.

Diese Versuche tun aber noch einen anderen Umstand dar, welcher zwar zu erwarten gewesen ist, den bestätigt zu finden es aber doch interessant ist durch eine strenge Experimentation. Tabelle XX beweist uns tatsächlich, daß unser Kaninchenserum kein $\alpha$-Agglutinin enthält, denn sonst müßten wir beim Versuche XX mehr oder minder reichliche Agglutination erhalten, gleich derjenigen, welche wir bei den analogen, mit Pferde- oder Meerschweinchenserum vorgenommenen Versuchen (Tabelle VII—XIII z. B.) erhalten haben. Tatsächlich wissen wir, daß die zu diesen Versuchen verwendete Typhusaufschwemmung (auf 60 bis 62° erwärmt, Versuch VI) nur das $\beta$-Agglutinogen enthält, welches absolut unfähig ist, sich mit dem $\alpha$-Agglutinin zu binden; wir hätten daher das letztere in der oben schwimmenden Flüssigkeit finden müssen, wenn das Gemenge davon enthalten hätte.

Es erübrigt sich noch, zu untersuchen, wie sich dieses auf 60—62° erwärmte Kaninchenserum, und zwar zunächst gegenüber den normalen und sodann gegenüber Typhusbacillen verhält, welche vorher auf dieselbe Temperatur von 60—62° gebracht worden sind.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in der folgenden Tabelle verzeichnet:

Tabelle XXI.

Kaninchenserum auf 60—62° erwärmt + eine Typhuskultur.

| | Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1/5000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 2 | 1/2500 | 0 | 0 | ± | + | + | unvollkommene Agglut. |
| 3 | 1/1000 | 0 | ± | + | + | + | fast vollkommene Aggl. |
| 4 | 1/500 | ± | ± | + | + | + | |
| 5 | 1/250 | ± | + | + | + | + | |
| 6 | 1/100 | + | + | + | + | + | |
| 7 | 1/50 | + | + | + | + | + | |

Tabelle XXII.

Kaninchenserum auf 60—62° erwärmt + Typhuskultur auf 60—62° erwärmt.

| | Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1/5000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 2 | 1/2500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | leichte und unvollkommene Agglutination |
| 3 | 1/1000 | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | |
| 4 | 1/500 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | |
| 5 | 1/250 | 0 | 0 | 0 | ± | + | |
| 6 | 1/100 | 0 | 0 | 0 | ± | + | |
| 7 | 1/50 | 0 | 0 | 0 | ± | + | |

Die Ergebnisse dieses Versuches sind sehr interessant und sie scheinen a priori selbst ein wenig widersprechend. Unsere früheren Versuche mit Pferde- oder Meerschweinchenserum schienen zu beweisen, daß die Wärme auf das $\beta$-Agglutinin einen starken, ja selbst zerstörenden Einfluß übt. Hier sehen wir nun in den Gläsern jeder Serie sich eine Agglutination vollziehen, während das $\beta$-Agglutinin bei den analogen Versuchen, die mit den vorhin beobachteten Sera angestellt wurden, aus der Mischung verschwunden zu sein schien!

Um diesen Widerspruch zu erklären, müssen wir die Wirkung dieses

Agglutinins abgesondert für die intakten, sodann aber für dieselben, durch Wärme beeinflußten Bacillen untersuchen.

Zunächst finden wir, daß die normalen Typhusbacillen durch das erwärmte $\beta$-Agglutinin ebenso agglutiniert werden, wie wenn dasselbe nicht erwärmt wurde. Es besteht tatsächlich kein Unterschied zwischen den Tabellen XXI und XV. Daraus schließen wir, daß die Affinität des $\beta$-Agglutinins zum $\alpha$-Agglutinogen durch die Erwärmung auf 60—62° nicht beeinflußt wird. Dies ist absolut neu, und wir konnten diesen Umstand bei unseren mit Pferde- und Meerschweinchenserum angestellten Versuchen nicht ans Licht ziehen, weil wir neben dem $\beta$-Agglutinin jedesmal das $\alpha$-Agglutinin antrafen, welches für sich der Wärme leicht widersteht und so die Wirkung des anderen Agglutinins verdeckte. Läßt man die Erwärmung länger andauern, so sind die Ergebnisse ganz dieselben; die Agglutination ist ebenso energisch und vollzieht sich stets in derselben Zeit.

Tabelle XXIII.
Kaninchenserum während 3 Stunden auf 60—62° erwärmt + 1 Typhuskultur.

| | Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | $^1/_{5000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 2 | $^1/_{2500}$ | 0 | 0 | ± | + | + | unvollkommene Agglut. |
| 3 | $^1/_{1000}$ | 0 | ± | + | + | + | fast vollkommene „ |
| 4 | $^1/_{500}$ | ± | ± | + | + | + | |
| 5 | $^1/_{250}$ | + | + | + | + | + | |
| 6 | $^1/_{100}$ | + | + | + | + | + | |
| 7 | $^1/_{50}$ | + | + | + | + | + | |

Tabelle XXIV.
Kaninchenserum während 6 Stunden auf 60—62° erwärmt + 1 Typhuskultur.

| | Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | $^1/_{5000}$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 2 | $^1/_{2500}$ | 0 | 0 | ± | + | + | unvollkommene Agglut. |
| 3 | $^1/_{1000}$ | 0 | ± | + | + | + | fast vollkommene „ |
| 4 | $^1/_{500}$ | ± | + | + | + | + | |
| 5 | $^1/_{250}$ | + | + | + | + | + | |
| 6 | $^1/_{100}$ | + | + | + | + | + | |
| 7 | $^1/_{50}$ | + | + | + | + | + | |

Wenn wir diese Versuche mit anderen, früher erwähnten vergleichen, so zeigt sich, daß das $\beta$-Agglutinin eine doppelte Affinität besitzt. Es kann sich mit dem $\alpha$- und mit dem $\beta$-Agglutinogen verbinden, und die Wärme, welche ihm die Fähigkeit entzieht, die letztere Substanz zum Niederschlage zu bringen, alteriert in nichts seine Eigentümlichkeit gegenüber der ersteren. Aus diesen Versuchen läßt sich noch eine interessante Lehre ziehen, auf welche wir es nützlich finden, aufmerksam zu machen. Man sieht einerseits, daß die agglutinierende (funktionelle) Gruppe des Agglutinins sehr empfindlich ist und andererseits, daß je nach den Bedingungen, welche den Versuch regieren, er seine niederschlagende Eigenschaft ausübt oder daß er ganz unwirksam scheint.

Auch kann man nicht vorsichtig genug sein in der Beurteilung der Resultate, welche durch Versuche über Agglutination geliefert werden: die minimalste Aenderung in den Bedingungen des Experimentes kann ihre Ergebnisse ganz modifizieren.

Andererseits finden wir, daß sich die erwärmten Typhusbacillen durch dasselbe Serum nur sehr langsam und unvollständig agglutiniert haben, was absolut nicht mit den früher, insbesondere beim Versuche VIII erhaltenen Ergebnissen im Einklange steht. Nach dem, was infolge der mit auf 60—62° erwärmten Pferde- und Meerschweinchenserum unternommenen Versuche vorauszusehen war, hätten wir hier keine Spur einer Agglutination erhalten sollen. Dies ist um so richtiger, als diese Versuche uns eine Zeit lang glauben ließen, daß das $\beta$-Agglutinin bei 60—62° zerstört werde. Der Widerspruch, der zwischen diesem und dem gegenwärtigen Versuche vorliegt, ist um so größer, als die Fortsetzung der Erwärmung an den Ergebnissen nichts ändert. Wie man aus den Tabellen XXV und XXVI ersehen kann, agglutiniert das während 3 oder 6 Stunden auf 60—62° erwärmte Serum die erwärmte Typhusemulsion in derselben Weise wie dasjenige Serum, welches dieser Temperatur nur während 1 Stunde ausgesetzt war.

Tabelle XXV.

Kaninchenserum während 3 Stunden auf 60—62° erwärmt + 1 Typhuskultur auf 60—62° erwärmt (1 Stunde).

| | Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1/5000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 2 | 1/2500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 3 | 1/1000 | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | |
| 4 | 1/500 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | |
| 5 | 1/250 | 0 | 0 | 0 | ± | + | |
| 6 | 1/100 | 0 | 0 | 0 | ± | + | |
| 7 | 1/50 | 0 | 0 | 0 | ± | + | |

Tabelle XXVI.

Kaninchenserum während 6 Stunden auf 60—62° erwärmt + 1 Typhuskultur auf 60—62° erwärmt (1 Stunde).

| | Serumverdünng. | 15 Minut. | 30 Minut. | 1 Stunde | 2 Stdn. | 24 Stdn. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1/5000 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 2 | 1/2500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 3 | 1/1000 | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | |
| 4 | 1/500 | 0 | 0 | 0 | 0 | + | |
| 5 | 1/250 | 0 | 0 | 0 | ± | + | |
| 6 | 1/100 | 0 | 0 | 0 | ± | + | |
| 7 | 1/50 | 0 | 0 | 0 | ± | + | |

Nach den bereits früher gewonnenen Ergebnissen dürften wir daher hier keine Agglutination erhalten (Tabelle VIII). In der Tat, wenn uns Versuch XXI soeben gezeigt hat, daß das $\beta$-Agglutinin bei 60—62° nicht zerstört wird, wie man durch die Versuche mit Pferde- und Meerschweinchenserum anzunehmen versucht werden könnte, so haben diese letzteren doch genau festgestellt, daß diese Behandlung dem $\beta$-Agglutinin die Fähigkeit, erwärmte Typhusbacillen zum Niederschlage zu

bringen, benimmt. Das hier erhaltene Resultat ist gerade entgegengesetzt. Warum erhalten wir unter diesem Falle eine Agglutination, während wir unter denselben Verhältnissen mit den vorher besprochenen Sera keine solche erhalten haben; und welchen Umständen ist sie zuzuschreiben? Sie kann offenbar nicht vom $\beta$-Agglutinin herrühren, da dieses bei 60° die Fähigkeit verliert, das $\beta$-Agglutinogen zum Niederschlage zu bringen. Sie ist demnach dem Vorhandensein eines neuen Agglutinins zuzuschreiben, welches sich normalerweise nicht in dem Serum der Tiere vorfindet, welche mit lebenden oder mit solchen Kulturen immunisiert worden sind, welche so getötet wurden, daß die Konstitution der Mikroben nicht verändert wird.

Diese spezielle agglutinierende Substanz findet sich in dem Serum aller Tiere, welche durch die Einspritzung von bei 60° getöteten Kulturen immunisiert worden sind.

Indem wir sagten, daß die labile agglutinierbare Substanz ($\alpha$-Agglutinogen), welche in Typhusbacillen enthalten ist, bei 60° zerstört wird, haben wir uns undeutlich ausgedrückt. Diese Substanz wird nicht im eigentlichen Sinne des Wortes zerstört, wohl aber verwandelt sie sich in andere Zersetzungsprodukte. Die auf 60—62° erwärmten Typhusbacillen enthalten demnach außer dem $\beta$-Agglutinogen die Zersetzungsprodukte des $\alpha$-Agglutinogens. Diese letzteren bilden, in den Organismus eingeführt, spezielle Antikörper, welche nur wenig aktiv sind und deren Vorhandensein wir vorhin (Tabelle XXII) konstatiert haben. Mit anderen Worten, diese Produkte besitzen, gleich wie das $\alpha$-Agglutinogen, von dem sie herstammen, die Eigenschaft, sich mit gewissen Zellrezeptoren zu verbinden und dadurch deren Ueberproduktion nach dem von Ehrlich über die Bildung spezifischer Antikörper aufgestellten allgemeinen Gesetze hervorzurufen.

Es sind dies dieselben Antikörper, welche durch Inokulation der Zersetzungsprodukte des $\alpha$-Agglutinogens entstehen und sich in vitro mit den nämlichen, in auf 60—62° erwärmten Typhusbacillen enthaltenen Zersetzungsprodukten verbinden und gleichfalls die im Versuche XXII beobachtete Agglutination hervorrufen.

Wir müssen noch einen letzten Punkt klarstellen.

Wir wissen, daß das erwähnte $\beta$-Agglutinin die Fähigkeit verloren hat, die ebenfalls erwärmten Typhusbacillen zum Niederschlage zu bringen. Aber hat es auch die Fähigkeit eingebüßt, sich mit ihnen zu verbinden? Um diese Frage zu lösen, werden wir Aufschwemmungen von auf 60—62° erwärmten Typhusbacillen verschiedene Mengen gleichfalls erwärmten Kaninchenserums zusetzen (siehe Tabelle XXVI). Nach 24 Stunden hat sich ein leichter Niederschlag gebildet, welchen wir durch Zentrifugation zum Agglomerieren bringen; hierauf fügen wir der — natürlich nach Dekantierung — oben schwimmenden Flüssigkeit eine frische Typhuskultur bei. Es vollzieht sich keine Agglutination; die Aufschwemmungen bleiben vollständig trübe und homogen. Das Resultat ist das nämliche, wenn das Serum während 1, 3 oder 6 Stunden erwärmt worden ist. In den oben schwimmenden Flüssigkeiten der Röhrchen 6 und 7 erhalten wir eine Agglutination, da sie einen Ueberschuß von Agglutinin enthalten, wie uns die vorigen Versuche gezeigt haben.

Aus diesen Versuchen folgt, daß, wenn die Erwärmung auf 60 bis 62° dem $\beta$-Agglutinin die Fähigkeit, erwärmte Typhusbacillen zum Niederschlage zu bringen, entzieht, dasselbe nichtsdestoweniger die Eigenschaft behält, sich mit dem $\beta$-Agglutinogen zu verbinden. Seine

Affinität für den letzteren ist selbst nicht beeinflußt, denn wenn man lebende Bacillen einer Aufschwemmung erwärmten, mit β-Agglutinin gesättigter Typhusemulsion zusetzt, so vollzieht sich keine Agglutination. Diese Agglutination müßte aber notwendigerweise stattfinden, wenn die Affinität des β-Agglutinins für das β-Agglutinogen abgenommen hätte.

---

Endlich wollen wir in einem letzten Versuche nachweisen, daß die Wirkungen der beiden Agglutinine eines Immunserums sich unabhängig voneinander auf die beiden agglutinierbaren Substanzen der Typhusbacillen vollziehen. Mit anderen Worten, der Wert eines Serums, welches gleichzeitig die beiden Agglutinine enthält, ist durch die Niederschlagung des α-Agglutinogens durch α-Agglutinin gegeben. Die Gegenwart des β-Agglutinins beschleunigt auf keine Art die Agglutination.

Um dies zu beweisen, haben wir ein Pferd zuerst mit lebenden Typhuskulturen immunisiert und sodann, nachdem der agglutinierende Wert genau ermittelt war, die Immunisation durch ausschließliche Einspritzung von bei 60—62° getöteten Kulturen fortgesetzt. Wir sehen aus Tabelle XXVII, daß der Wert des Serums infolge dieser Behandlung für die lebenden Typhusbacillen zunächst gleich bleibt (da wir kein α-Agglutinogen mehr einspritzen), und daß er im Gegenteil für die erwärmten Bacillen zunimmt.

Der agglutinierende Wert für die lebenden Bacillen bleibt eine gewisse Zeit hindurch unverändert, nachdem die Einspritzung von α-Agglutinogen aufgehört hat. Nach einiger Zeit nimmt jedoch diese Tätigkeit ab und wir sehen alsdann den agglutinierenden Wert sich allmählich vermindern. Gleichzeitig werden aber andere Zellrezeptoren unter dem Einflusse der β-Agglutinogeneinspritzungen frei und wir sehen alsdann, daß sich das β-Agglutinin in größerer Menge bildet. Ungeachtet dieser Ueberproduktion von β-Agglutinin, erhöht sich aber der agglutinierende Wert des Serums nicht, woraus offenbar folgt, daß beide Agglutininarten sich mit zwei verschiedenen Arten agglutinierender Substanzen verbinden, und daß ihre Wirkungen sich nicht vereinigen.

Tabelle XXVII.

| | Für lebende Bacillen | Für bei 60—62° erwärmte Bacillen |
|---|---|---|
| Agglutinationswert des Serums nach Aufhebung der lebenden Kultureinspritzungen | 1/10000 | 1/3500 |
| Agglutinationswert desselben Serums in verschiedenem Zeitraume nach dem Beginn der Immunisation mittels erwärmter Typhusbacillen (1 Stunde bei 60—62°) | 1/10000<br>1/8000<br>1/5000 | 1/9500<br>1/6500<br>1/5000 |

Das Serum des Pferdes, welches der gemischten Immunisation durch lebende und bei 60—62° getötete Kulturen unterworfen worden ist, besitzt natürlich die Eigenschaften der vorhin beobachteten Sera (Pferd oder Meerschweinchen). Da es zugleich β- und α-Agglutinin enthält, ist es also fähig, die lebenden und bei 60—62° getöteten Bacillen niederzuschlagen. Wie die früher studierten Sera, kann es die lebenden Bacillen noch agglutinieren, nachdem es erst erwärmte Kulturen agglutiniert hat. Auch halten wir es für überflüssig, hier eine detaillierte Darstellung der Versuche, so wie wir es für die früher besprochenen Sera getan haben, zu geben, denn die einzige Eigentümlichkeit, welche

das zuletzt besprochene Serum besitzt, besteht darin, daß es einen größeren Teil von $\beta$-Agglutinin enthält als die gewöhnlichen Immunsera, gewonnen durch Einspritzung lebender Kulturen. Seine Eigenschaften sind daher dieselben, wie die des Serums vom Pferde und Meerschweinchen. Der Zweck dieses Versuches war besonders der, zu beweisen, daß sich bei der Agglutination der Typhusbacillen die Aktionen der Agglutinine nicht vereinigen. Es ist diesem Umstand zuzuschreiben, daß ihre Existenz so lange unbemerkt geblieben ist. Wir sehen tatsächlich, daß sich die agglutinierende Kraft des Serums progressiv steigert, solange als wir lebende Kulturen einspritzen. Während dieser Periode der Immunisation bleibt der agglutinierende Wert für die erwärmten Bacillen immer relativ schwach. Sobald wir aber die Einspritzung lebender Kulturen unterbrechen und durch Inokulierung von auf 60–62° erwärmten Kulturen ersetzen, finden wir, daß der agglutinierende Wert gegenüber den lebenden Bacillen zuerst stationär bleibt und dann abnimmt, während er im Gegenteil gegenüber den erwärmten Bacillen ziemlich rasch zunimmt. Es befindet sich daher in dem Blute dieses Tieres ein Teil von $\alpha$-Agglutinin, welcher während einer gewissen Zeit konstant geblieben ist, während sein Teil von $\beta$-Agglutinin fortschreitend zugenommen hat. Würden sich aber die Wirkungen beider Substanzen vereinigen, so hätte die Agglutination der normalen Bacillen energischer sein und der Wert des Serums zunehmen müssen.

---

## Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Bisher glaubte man, daß die agglutinierbare Substanz, welche sich in den Typhusbacillen vorfindet, eine einfache, einheitliche Zusammensetzung sei und durch einen einzigen Körper gebildet werde, dessen chemische Beschaffenheit unbekannt geblieben war, der aber wahrscheinlich zur Klasse der Albuminoïde gehörte. Diese dem Tierorganismus zugleich mit den Bacillen eingespritzte Substanz besaß die Eigentümlichkeit, sich mit gewissen Zellrezeptoren zu verbinden und rief auf diese Weise — nach der Ehrlichschen Theorie — eine Neubildung dieser Rezeptoren hervor, von denen ein Teil in den Kreislauf des Blutes eintrat und das Agglutinin bildete. Unsere Versuche lassen uns diese Tatsachen in anderer Weise beurteilen und haben uns gezeigt, daß weder die agglutinierbare noch die agglutinierende Substanz einheitliche Körper sind. Sie bilden sich durch die Vereinigung mehrerer verschiedenartiger Körper, welche wir bestimmt haben, und die wir sogar voneinander unterscheiden konnten.

Wir waren in der Lage, durch verschiedene Versuche nachzuweisen, daß die lebenden Typhusbacillen zwei verschiedene agglutinierbare Substanzen enthalten, welche sich durch ihre Empfindlichkeit gegenüber der Wärme voneinander unterscheiden.

Die erste, das $\alpha$-Agglutinogen, wird bei 60—62° rasch zerstört. Sie erzeugt durch ihre Verbindung mit der agglutinierenden Substanz des Serums die so charakteristischen groben Flocken und den umfangreichen Niederschlag bei der Agglutination der Mikroben. Sie ist der vorzüglichste Bestandteil der lebenden Bacillen.

Die zweite Substanz, das $\beta$-Agglutinogen, findet sich ebenfalls in den normalen Typhusbacillen vor. Sie widersteht der Wärme mit Leichtigkeit und selbst eine während mehrerer Stunden anhaltende Temperatur von 60—62° kann sie nicht beeinflussen. Ihre Verbindung mit der agglutinierenden Substanz des Serums bringt gleichfalls eine Agglu-

tination hervor, aber der sich bildende Niederschlag zeigt sich in Form kleiner Klümpchen, welche langsam auf den Boden des Glases sinken, wo sie eine ziemlich kompakte, bisweilen etwas schleimige Masse bilden. Werden Typhusbacillen auf 60—62° erwärmt, so bleibt das $\beta$-Agglutinogen unverändert, während das $\alpha$-Agglutinogen zerstört wird.

Die Einspritzung dieser Substanzen erzeugt in dem Serum der immunisierten Tiere zwei verschiedene Substanzen: Das $\alpha$-Agglutinin, unveränderlich, bei 60—62° widerstehend und mit besonderer Affinität für das $\alpha$-Agglutinogen der Mikroben versehen.

Das $\beta$-Agglutinin besitzt eine besondere Affinität für das $\beta$-Agglutinogen. Diese Substanz hat demnach eine doppelte Wahlverwandtschaft; sie kann sich mit beiden agglutinogenen Substanzen der Typhusbacillen verbinden und so Zusammensetzungen ergeben, welche voneinander sehr verschieden sind. Durch Erwärmung auf 60—62° verliert sie die Fähigkeit, das $\beta$-Agglutinogen zum Niederschlage zu bringen; sie verbindet sich zwar energisch mit demselben, doch bildet sie eine neue Zusammensetzung, welche sich nicht niederschlägt. Mit anderen Worten ist ihre haptophore Gruppe intakt geblieben, während die funktionelle (Niederschlag erzeugende) Gruppe alteriert wird. Ihre Fähigkeit, sich zu verbinden und das $\alpha$-Agglutinogen zum Niederschlage zu bringen, wird durch die Wärme nicht beeinflußt.

In der Agglutinationserscheinung vereinigen sich die Wirkungen dieser beiden Substanzen nicht. Der Wert eines Serums, gewonnen durch Immunisation mit lebenden oder nicht alterierten Kulturen, welches normale Typhusbacillen in einem bestimmten Grade agglutiniert, erhöht sich nicht (bis zu einem bestimmten Punkte), wenn man dem Tiere erwärmte Kulturen einspritzt, deren Inokulierung andererseits den agglutinierenden Wert des Serums gegenüber auf 60—62° erwärmten Typhusbacillen wohl erhöhen würde. Mit anderen Worten, wenn der Agglutinationswert eines Serums bekannt ist, so läßt sich die Wirksamkeit desselben gegenüber der einen der agglutinierbaren Substanzen (dem $\beta$-Agglutinogen) erhöhen, ohne daß der Totalagglutinationswert sich verändert.

Der Agglutinationswert eines Serums, so wie man denselben gewöhnlich ausdrückt, stellt also nicht die Summe der agglutinierenden Werte der beiden Agglutinine dar, welche das Serum enthält, er stellt vielmehr in Wirklichkeit nur jene Agglutination dar, welche durch das $\alpha$-Agglutinin hervorgerufen wird. In den meisten Fällen bleibt die Aktion des $\beta$-Agglutinins unbemerkt; nur in den höchst seltenen Fällen (Immunisation mit bei 60—62° getöteten Kulturen), wo es sich in großem Uebermaße im Verhältnis zum anderen vorfindet, kann es zur Erhöhung des Wertes des Serums beitragen.

Wenn man einem Tiere lebende Typhusbacillen einspritzt, so bilden sich in seinem Blute zugleich $\alpha$- und $\beta$-Agglutinin.

Spritzt man aber dem Tiere Bacillen ein, welche vorher einer Temperatur von 60—62° unterworfen waren, so enthält dessen Blut nur $\beta$-Agglutinin allein und nicht die mindeste Spur von $\alpha$-Agglutinin.

Dieser Umstand ist äußerst wichtig und kann die Verschiedenheiten erklären, welche man so häufig in den Abhandlungen über die Agglutination antrifft. Je nach dem Zusande der Kulturen und der Art ihrer Einspritzung (lebend oder getötet durch Erwärmung), je nach dem Nährboden, auf welchem sie gezüchtet wurden u. s. w., können die Eigenschaften des durch ihre Einspritzung erhaltenen Serums in allem und jedem variieren. Die Beziehungen zwischen den relativen Mengen von

α- und β-Agglutinin, welche man erhält, können in bedeutendem Maße wechseln, und wir haben gesehen, daß man sehr leicht ein Serum erhält, welches gar kein α-Agglutinin enthält.

Man muß sich daher bei Wiederholung der von anderen Bakteriologen ausgeführten Versuche, wenn man deren Ergebnisse genau kontrollieren will, genau dieselben Bedingungen verschaffen, unter denen die Vorgänger gearbeitet haben. Dadurch werden viele Kontroversen und Meinungsverschiedenheiten vermieden.

Das α-Agglutinin hat für das α-Agglutinogen eine ganz besondere Affinität und ist unfähig, sich mit dem β-Agglutinogen zu verbinden. Je nachdem das eine oder andere Agglutinin überwiegt, werden wir demnach Sera mit höchst verschiedenen Eigenschaften erhalten. Wir wissen in der Tat, daß das β-Agglutinin gleichfalls eine sehr ausgesprochene Affinität für das β-Agglutinogen besitzt; es kann sich jedoch in gewissen Fällen gleichfalls mit dem α-Agglutinogen verbinden und ein Phänomen hervorrufen, welches nur schwer von demjenigen unterschieden werden kann, welches aus der Verbindung dieser Substanz mit dem α-Agglutinin entsteht.

Diese Eigenschaft des β-Agglutinins, sich mit beiden agglutinogenen Substanzen der Typhusbacillen verbinden zu können, läßt uns annehmen, daß diese eine sehr verwandte chemische Zusammensetzung haben, ja es ist selbst nicht unmöglich, daß das β-Agglutinogen (von welchem das β-Agglutinin herstammt) nur ein Derivat vom α-Agglutinogen sei. Diese Vermutung bestärkt sich, wenn man ein Tier mit alten Kulturen immunisiert; die Proportion des in dem Serum gefundenen β-Agglutinins ist größer als diejenige, welche im Serum der mit jungen Kulturen immunisierten Tiere gefunden wird. Das Serum der mit sehr jungen Typhuskulturen immunisierten Tiere enthält selbst eine sehr minimale Proportion von β-Agglutinin.

Es ist nun die Frage, ob die agglutinogenen Substanzen eine von der anderen abstammen, wie z. B. die Toxoïde von den Toxinen, oder ob sie sich in dem Bakterienkörper gleichzeitig bilden, wie die Toxine und die Toxone in den Diphtheriekulturen.

---



# Ueber die Wirkungsweise des Antitrypsins des Blutserums.

[Aus dem Institute für spezielle Pathologie der Universität Pavia (Prof. L. Devoto).]

Von Assistenten Dr. **M. Ascoli** und cand. med. **C. Bezzola.**

In einem am 19. Dezember vergangenen Jahres in der Associazione Sanitaria Milanese gehaltenen Vortrage berichtete unser Chef, Herr Prof. Devoto[1]), unter anderem über von uns ausgeführte Versuche bezüglich der Wirkungsweise des Antitrypsins des Blutserums. Da inzwischen, unabhängig von uns, Delezenne[2]), von demselben Gedankengange geleitet, zum Teil ähnliche Untersuchungen unternommen und mitgeteilt hat, sehen wir uns zur Wahrung unserer Priorität veranlaßt,

1) Devoto, Movi contributi alla Fisiologia e alla Patologia della digestione. Milano (F. Fossati) 1903.
2) Delezenne, Compt. rend. Soc. Biol. 1903. No. 3.

die diesbezüglichen, seit geraumer Zeit abgeschlossenen Versuchsreihen, die wir im Zusammenhange mit anderen im Gange befindlichen zu veröffentlichen gedachten, schon jetzt ausführlich wiederzugeben.

Bekanntlich haben die schönen Untersuchungen Delezennes[1], von der von der Pawlowschen Schule festgestellten Tatsache ausgehend, daß der Darmsaft eine beschleunigende Wirkung auf die Trypsinverdauung ausübt, gezeigt, daß die Wirkung des Trypsins auf zwei verschiedenen Faktoren beruht: Sowohl der durch Katheterismus des Ductus Wirsungianus gewonnene Pankreassaft als der Darmsaft sind nämlich für sich allein unfähig, Eiweißkörper zu verdauen; eine energische Verdauung findet hingegen statt, wenn dieselben zusammen auf die Eiweißkörper einwirken. Nach Delezennes Ausführungen stammt die den Pankreassaft aktivierende Substanz des Darmsaftes, Enterokinase genannt, von den Leukocyten der Peyerschen Follikel.

Es ergab sich nun die Frage, gegen welche der zwei Komponenten des Trypsins das Antitrypsin des Blutserums seine Wirkung entfalte.

Wir bereiteten uns nach Delezennes Angaben inaktiven Pankreassaft und Enterokinase; ersterer ist ein filtrierter Auszug fein zerschnittenen Pankreas hungernder, durch Verbluten getöteter Hunde in 2-proz. Natriumfluoridlösung; letztere wird durch 2—3stündiges Digerieren bei 38° von sorgfältig gewaschenem, zerhacktem Dünndarm in Toluolwasser gewonnen: als Verdauungsobjekt diente 3-proz. Gelatine in 1-proz. Natriumfluoridlösung nach Arthus. Wir vergewisserten uns jedesmal in Kontrollversuchen, daß Kinase und inaktiver Pankreassaft für sich allein, selbst in größerer Menge, die Gelatine nicht verdauten, und verwarfen sie, wenn dies, wie es mitunter vorkommt, der Fall war. Beide Substanzen büßen im gelösten Zustande ihre Wirksamkeit ein und sind demnach möglichst frisch zu verwenden.

Es wurde nun zunächst die geringste Menge Enterokinase (Enterokinaseminimum = K.M.) und inaktiven Pankreassaftes (= P.M.) verwendet, die zusammen zur Verdauung von 3 ccm Gelatine bei $2^1/_2$-stündigem Aufenthalte im Brütschranke bei 38° noch ausreichten; in parallelen Versuchsreihen wurden dann in 2 Serien Reagenzgläser einerseits zu 2 K.M. ein mehrfaches Multiplum P.M., andererseits zu P.M. ein Multiplum K. m. hinzugesetzt und darauf diese Mischungen entsprechend mit steigenden Mengen menschlichen Blutserums und 3 ccm Gelatinelösung versetzt. Bei dieser Versuchsanordnung mußte die Verdauung in derjenigen Reihe schon bei geringerem Serumzusatze ausbleiben, welche den Bestandteil, dem gegenüber das Serum sich hemmend erweist, in relativ kleinerer Menge enthielt; in Tabelle I sind die zwei Reihen zusammengestellt.

Demnach beruht das antitryptische Vermögen des Blutserums hauptsächlich auf seiner hemmenden Wirkung gegenüber der Enterokinase.

Dadurch ist aber nicht ausgeschlossen, daß es auch den inaktiven Pankreassaft, wenn auch in geringerem Maße, beeinflussen könne: ist ja für die spezifisch antilytischen Sera[2] sowie für gewisse Antihämolysine normaler Blutsera[3][4] bereits bekannt, daß sie zwar hauptsächlich antikomplementär wirken, gleichzeitig aber auch Antiambozeptoren enthalten.

---

1) Delezenne, ibid. 1901. 1902.
2) Bordet, J., Annales de l'Inst. Pasteur. 1900.
3) Müller, P. Th., Centralbl. f. Bakteriol. etc. Abt. I. 1901.
4) Marshall u. Morgenroth, Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. XLVII. Heft 3 u. 4.

Tabelle I.

| No. | Inaktiver Pankreassaft | Kinase | Menschliches Blutserum | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 ccm (= 4 P.M.) | 0,1 ccm (= 1,5 K.M.) | 0,0025 | + 3 ccm Gelatinelösung; 2½ Stunde bei 38°; dann bis auf den folgenden Morgen im Eisschranke | = 0 |
| 2 | do. | do. | 0,005 | | = 0 |
| 3 | do. | do. | 0,01 | | = 0 |
| 4 | do. | do. | 0,015 | | = 0 |
| 5 | do. | do. | 0,02 | | = 0 |
| 6 | do. | do. | 0,025 | | = + |
| 7 | do. | do. | 0,03 | | = + |
| 8 | do. | do. | 0,035 | | = + |
| 9 | do. | do. | 0,04 | | = + |
| 10 | do. | do. | 0,045 | | = + |
| 1 | 0,25 ccm (= 1 P.M.) | 0,4 ccm (= 6 K.M.) | 0,0025 | | = 0 |
| 2 | do. | do. | 0,005 | | = 0 |
| 3 | do. | do. | 0,01 | | = 0 |
| 4 | do. | do. | 0,015 | | = 0 |
| 5 | do. | do. | 0,02 | | = 0 |
| 6 | do. | do. | 0,025 | | = 0 |
| 7 | do. | do. | 0,03 | | = 0 |
| 8 | do. | do. | 0,035 | | = 0 |
| 9 | do. | do. | 0,04 | | = 0 |
| 10 | do. | do. | 0,045 | | = 0 |

0 = flüssig, + = fest.

Zur Entscheidung dieser Möglichkeit war es angezeigt, eine etwas verschiedene Versuchsanordnung zu wählen, in welcher die Bedingungen für das Hervortreten einer auch schwachen Hemmung der Wirkung des inaktiven Pankreassaftes gegeben wären. Zu diesem Zwecke wurde eine Reihe Reagenzgläser mit einem Ueberschusse Kinase und P.M. beschickt und zu diesen Gemischen steigende, immer jedoch geringere als die zur Neutralisierung der Kinase nötigen Dosen Blutserums hinzugesetzt: die Kontrollen unterschieden sich nur durch eine etwas größere Menge inaktiven Pankreassaftes. Trat in einigen jener Röhrchen Verdauung nicht ein, so konnte ihr Ausbleiben nur auf eine durch das Serum bewirkte Hemmung der Wirkung des inaktiven Pankreassaftes zurückgeführt werden (s. Tabelle II).

Tabelle II.

| No. | Inaktiver Pankreassaft | Kinase | Menschliches Blutserum | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,01 (= T.M.) | 0,8 (= 16 K.M.) | 0,01 | 3 ccm Gelatine etc. wie in Tabelle I. | = 0 |
| 2 | do. | do. | 0,015 | | = 0 |
| 3 | do. | do, | 0,02 | | = 0 |
| 4 | do. | do. | 0,025 | | = 0 |
| 5 | do. | do. | 0,03 | | = 0 |
| 6 | do. | do. | 0,035 | | = + |
| 7 | do. | do. | 0,04 | | = + |
| 8 | do. | do. | 0,045 | | = + |
| 9 | do. | do. | 0,05 | | = + |
| 10 | do. | do. | 0,055 | | = + |
| 11 | do. | do. | 0,06 | | = + |
| Kontrole | 0,2 | 0,8 | 0,06 | | = 0 |

*Das Blutserum übt also tatsächlich auch auf den inaktiven Pankreassaft einen hemmenden Einfluß aus. Das Antitrypsin des Blutserums entfaltet demnach auf beide*

Bestandteile des Trypsins seine Wirkung, und zwar wirkt es in höherem Maße auf die Kinase, in geringerem auf den inaktiven Pankreassaft hemmend.

In einer weiteren Mitteilung werden wir über die Grenzen der Spezifizität des Antitrypsins und einiger anderer Antifermente des Blutserums, sowie über unregelmäßige Reihen, die wir manchmal zu beobachten Gelegenheit hatten, und an das M. Neisser und Wechsbergsche Phänomen erinnern, berichten.

Pavia, 15. Februar 1902.

---



# Untersuchungen über die bakterizide Wirkung in Alkohol gelöster Desinficientien auf Bakterienkulturen.

[Aus dem Institut für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg. Abteilung für Hygiene. Vorstand: Prof. Bonhoff.]

Von Dr. **Engels**, Assistenten am hygienischen Institut.
(z. Zt. 1. Assistent des kgl. hygienischen Institutes zu Posen.)

Mit 1 Figur.

Die günstigen Ergebnisse, welche ich in den in Bd. XLV des Archivs für Hygiene. Heft 3 u. 4. veröffentlichten Arbeiten[1]) mit alkoholischen Lösungen gewisser Chemikalien bei der Händedesinfektion erzielt hatte, veranlaßten mich, die desinfizierende Wirkung der drei als besonders günstig erwiesenen Desinfektionslösungen, also:

des 2-proz. Lysoform-Alkohols,
„ 2- „ Bacillol-Alkohols und
„ 2- „ Sublamin-Alkohols

noch weiter und zwar von den verschiedensten Gesichtspunkten aus zu untersuchen.

Die zuerst von mir zu beantwortende Frage war die, wie sich die Wirkung der geprüften 2-proz. resp. 2-promill. alkoholischen Lösungen gestalten würde, wenn man in Analogie mit der Fürbringerschen Methodik zunächst den Alkohol allein auf die Bakterien der Haut einwirken und darauf die Imprägnierung der Haut mit der 2-proz. resp. 2-promill. wässerigen Lösung folgen ließe. Diese Versuche sind in unserer Abteilung von mir angestellt und schon zur Drucklegung dem Centralblatt für Bakteriologie etc. übersandt worden. Die Erfolge berechtigten mich zu dem Schluß, daß die rein alkoholischen Lösungen des Sublamins, Bacillols und Lysoforms einen bedeutend größeren Desinfektionseffekt für die Hände garantieren als die wässerigen Fluida mit der Einschiebung des Alkohols nach Fürbringerscher Vorschrift.

Es kam nun darauf an, festzustellen, ob die in meinen oben zitier-

---

1) Engels, Archiv f. Hygiene. Bd. XLV. Heft 3: Bakteriologische Prüfungen desinfizierter Hände mit Hülfe des Paul-Sarweyschen Kastens nach Desinfektion durch Heißwasseralkohol, Seifenspiritus und Kombination von Alkohol und Formaldehyd. — Bakteriologische Prüfungen desinfizierter Hände mit Benutzung des Paul-Sarweyschen Kastens nach Desinfection mit Bacillol. — Ebenda. Heft 4: Bakteriologische Prüfung desinfizierter Hände mit Hülfe des Paul-Sarweyschen sterilen Kastens nach Desinfektion mit Quecksilbersulfatäthylendiamin (Sublamin).

ten Arbeiten hervorgetretene Ueberlegenheit der alkoholischen Lösungen der drei genannten Desinficientien (Lysoform, Bacillol, Sublamin) gegenüber den wässerigen Lösungen sich auch bei Verwendung von Bakterienkulturen, in Kulturversuchen, dokumentieren würde. Damit würde die einfächste Erklärung für die starke Wirkung bei den Händedesinfektionsversuchen gewonnen sein.

Es sei mir gestattet, hier über die Resultate der in diesem Sinne von mir angestellten Versuche zu berichten.

Zuvörderst jedoch einige Worte über die bisher in der Literatur bekannt gewordenen Arbeiten betreffend die desinfizierende Wirkung von alkoholischen Lösungen chemischer Desinficientien gegenüber Bakterienkulturen.

Durch die grundlegenden Versuche R. Kochs[2]) wurde der Nachweis erbracht, daß die Mehrzahl der zur Desinfektion verwendbaren chemischen Körper in Wasser gelöst sein müsse, damit sie auf die Bakterienleiber einwirken können.

Ließ Koch Karbolsäure, 5-proz., in wässeriger Lösung auf Milzbrandsporen, welche an Seidenfäden angetrockuet waren, einwirken, so zeigte sich, daß erst nach einer Einwirkungsdauer von 2 Tagen die Entwickelung der Sporen aufhörte, daß jedoch schon nach 1 Tage eine Entwickelungsstörung festgestellt werden konnte.

| Konzentration | Anzahl der Tage, nach deren Ablauf die Milzbrandsporen auf ihre Entwickelungsfähigkeit geprüft wurden | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Karbolsäure, 5-proz. | 1* | 2 | 3 | 4 | *1, an einer Stelle ein kleines Knäuel von Fäden. |

Die doppelt unterstrichenen Zahlen geben die Anzahl der Tage an, nach deren Ablauf die volle desinfizierende d. h. sporentötende Wirkung eingetreten war.

Koch trat nun auch der Frage näher, wie sich die Wirkung der Karbolsäure gestalten würde, wenn sie sich in anderen Lösungsmitteln befände. In dieser Beziehung prüfte er die in Oel und Alkohol gelöste Karbolsäure und kam bezüglich der bakteriziden Wirkung der alkoholischen Lösung zu folgendem Resultat:

| Einwirkende Flüssigkeit | Anzahl der Tage, nach deren Ablauf die Milzbrandsporen auf ihre Entwickelungsfähigkeit geprüft wurden | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| Karbolsäure in Alkohol, 5-proz. | 2 | 6 | 16 | 30 | 70 | |

Nach 70 Tagen zeigten sämtliche Proben auf Nährgelatine eine ganz ungehinderte Entwickelung; ein überraschendes Ergebnis: „In ..... Alkohol gelöst, äußert die Karbolsäure auch nicht die geringste desinfizierende Wirkung.“

Diese Erscheinung beschränkte sich nicht nur auf die Karbolsäure,

2) Koch, R., Ueber Desinfektion. (Mitteilungen a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. I. 1881.)

sondern konnte auch bei der Salicylsäure, Thymol u. a. konstatiert werden. Es stellte sich in der Folge heraus, daß die alkoholischen Lösungen einer Anzahl von Mitteln, welche, in Wasser gelöst, mehr oder weniger wirksam waren, eine bedeutend geringere oder gar keine Desinfektionskraft besaßen.

Die uns von den Kochschen Versuchen hier noch interessierenden Angaben lasse ich kurz folgen:

| Flüssigkeit | Zeit des Aufenthalts der Milzbrandsporen in den Flüssigkeiten (nach Tagen) | | | | | | | | | | | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Alkohol absolutus | 1 | 3 | 5 | 10 | 12 | 20 | 30 | 40 | 50 | 65 | 110 | |
| Alkohol (1 Teil mit 1 Teil Wasser) | 1 | 3 | 20 | 30 | 40 | 50 | 65 | 110 | | | | |
| Alkohol (1 Teil mit 2 Teil. Wasser) | 1 | 3 | 20 | 30 | 40 | 50 | 65 | 110 | | | | |
| Zimmtsäure (2 Proz. in Wasser 60, Alkohol 40) | 1 | 3 | 5 | 10 | | | | | | | | |
| Chinin (2 Proz. in Wasser 40, Alkohol 60) | 1* | 5* | | | | | | | | | | * Verspätetes geringes Wachstum |
| Jod (1 Proz. in Alkohol) | 1* | 2* | | | | | | | | | | * lückenhaft. Wachstum |
| Xylol (5 Proz. in Alkohol) | 1 | 5 | 30 | 50 | 90 | | | | | | | |
| Thymol (5 Proz. in Alkohol) | 1 | 6 | 10 | 15 | | | | | | | | |
| Salicylsäure (5 Proz. in Alkohol) | 1 | 6 | 10 | 15 | | | | | | | | |
| Ol. animale (5 Proz. in Alkohol) | 1 | 5 | 12 | | | | | | | | | |
| Ol. menth. piperit (5 Proz. in Alkohol) | 1 | 5 | 12 | | | | | | | | | |

In Alkohol also und seinen Verdünnungen mit Wasser im Verhältnis 1 : 1 und 1 : 2 haben die Milzbrandsporen fast 4 Monate lang gelegen, und es war nicht einmal eine Entwickelungshemmung, geschweige denn eine Entwickelungsunfähigkeit eingetreten.

Der gleiche schlechte Effekt wurde bei den in Alkohol gelösten, in der obigen Tabelle angegebenen chemischen Substanzen erreicht.

Eine zweite Reihe von Koch angestellter Versuche beschäftigte sich damit, die entwickelungshemmende Wirkung einiger Desinfektionsmittel auf Milzbrandbacillen festzustellen.

Dabei wurde eruiert, daß Alkohol das Wachstum bei 1 : 100 behindert, dasselbe aber erst bei 1 : 12,5 völlig aufhebt.

Seit diesen von R. Koch angestellten Versuchen ist von einer großen Anzahl von Autoren über die desinfizierende Wirkung von alkoholischen Lösungen chemischer Desinfektionsmittel gearbeitet worden. Es handelt sich dabei eigentlich um zweierlei: Einmal um die desinfizierende Wirkung des Alkohols und seiner wässerigen Verdünnungen an sich und zweitens um die desinfizierende Wirkung chemischer Desinfektionsmittel, die in Alkohol statt in Wasser gelöst sind. Beide Punkte sind aber in fast allen Arbeiten, über die zu berichten ist, so vielfach miteinander verquickt, daß es gut sein wird, sie auch hier gemeinsam zu besprechen.

Fürbringer[1]) war bekanntlich der erste, welcher auf Grund von speziellen, auf die Händedesinfektion gerichteten bakteriologischen und praktischen Versuchen zwischen der Reinigung der Hände mit Seife und Bürste und der Applikation des Desinficiens 1 Minute (später wurde die Zeit verlängert) den Alkohol empfahl und zwar nur als Ent-

1) Fürbringer, Untersuchungen und Vorschriften über die Desinfektion der Hände des Arztes etc. Wiesbaden 1888.

fettungsmittel, um ein intensiveres Eindringen der wässerigen Desinfektionslösungen zu ermöglichen. Die bakterizide Wirkung des Alkohols blieb außer Betracht.

Einen Schritt weiter ging dann noch Reinicke[1]), indem er als wirklich wirksames Agens bei der Fürbringerschen Desinfektionsmethode nur den Alkohol betrachtete.

Ahlfeld, welcher diesen Gedanken Reinickes weiter verfolgte und ausbaute, stellte fest, daß auch absichtlich infizierte Hände durch Alkohol keimfrei gemacht werden könnten.

Die uns an dieser Stelle am meisten interessierenden Versuche Ahlfelds mit Alkohol finden wir in der Arbeil von Ahlfeld und Vahle[2]). Die beiden Autoren fanden, daß trockenes Staphylokokkenmaterial selbst durch 60 Minuten dauernde Beeinflussung mit absolutem Alkohol nicht geschädigt wurde, daß aber derartiges Material schon durch 2 Minuten lange Alkoholbehandlung abgetötet werden konnte, wenn man es vorher kurze Zeit in Wasser brachte.

Als Erklärung dieser Verschiedenheit in der Wirkung des Alkohols gegenüber trockenem und feuchtem Bakterienmaterial führt Ahlfeld den Diffusionsstrom an, welcher beim Kontakt von feuchten Massen von Alkohol entsteht.

Von diesen Untersuchungen Ahlfelds ging weiterhin Epstein[3]) aus. In Analogie mit der Ahlfeldschen Versuchsanordnung verwandte Epstein auch bei seinen Prüfungen 2 Tage alte Bouillonkulturen, die an Seidenfäden angetrocknet waren, welch letztere vorher stets durch trockene Hitze sterilisiert waren, um den Kontakt der einzelnen Fasern zu lockern. Epstein konnte in Uebereinstimmung mit den Ahlfeld-Vahleschen Versuchsergebnissen feststellen, daß Fäden, welche vor dem Einlegen in Alkohol in sterilem Wasser bis zum Untersinken verweilt hatten (6 Minuten bei Ahlfeld und Vahle), keine Bakterien mehr zur Entwickelung brachten nach einer Einwirkungsdauer, nach der trocken in den Alkohol gebrachte Fäden noch blühende Kulturen ergaben. Epstein schloß daraus, daß die Verdünnung des Alkohols dabei der maßgebende und den Desinfektionserfolg bestimmende Faktor sein müsse.

Er prüfte deshalb mit Hilfe derselben Methodik die bakterizide Wirkung des Alkohol absolutissimus, des Alkohol absolutus (96—98-proz.) und des 80-, 50-, 40- und 25-proz. Alkohols. Als Testobjekte dienten Fäden, die mit Pyocyaneus, Prodigiosus und Staphylococcus pyogenes aureus imprägniert waren.

„Man ersieht aus diesen Tabellen, daß bei fallender Konzentration des Alkohols bis zu etwa 50 Proz. die Desinfektionskraft zunimmt, während bei weiterer Verdünnung wieder eine Abnahme der Wirkung eintritt.“

Die Wirkung des 50-proz. Alkohols war auch noch schwach; der 80- und höherprozentige Spiritus zeigte überhaupt keine keimtötende Wirkung mehr.

Epstein ging nun dazu über, einige der bekanntesten Desinfektionsmittel, deren wässerige Lösungen mehr oder weniger gut desinfi-

---

1) Reinicke, Bakteriologische Untersuchungen über die Desinfektion der Hände. (Centralbl. f. Gynäkologie. 1894. No. 47 und Archiv f. Gynäkologie. Bd. II. 1895.)

2) Ahlfeld und Vahle, Deutsche med. Wochenschr. 1896. No. 6.

3) Epstein, Zur Frage der Alkoholdesinfektion. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXIV. 1897.)

zierten, in alkoholischer Lösung zu prüfen. Er wählte dazu Sublimat, Karbol, Lysol und Thymol in Alkohol absolutissimus, in 80-, 50- und 25-proz. Spiritus. Als Testobjekt kam zu den oben erwähnten noch sporogener Milzbrand hinzu.

Epstein fand, daß Sublimat, Karbolsäure, Lysol und Thymol, in 50-proz. Alkohol gelöst, besser desinfizierend wirken als in gleicher Konzentration in Wasser oder in stärkeren oder schwächeren alkoholischen Flüssigkeiten.

Seinen Reagenzglasversuchen reihte Epstein dann noch praktische Versuche an seinen eigenen Händen an, auf die er mit Hilfe eines Wattebausches Reinkulturen von Prodigiosus und Pyocyaneus auftrug. Auch hierbei wurde mit denjenigen Lösungen der beste desinfektorische Effekt erzielt, welche ca. 50-proz. Alkohol enthielten.

Epstein zieht daher aus seinen Versuchen folgende Schlüsse:

1) Dem absoluten Alkohol kommt keine desinfizierende Kraft zu, wohl aber seinen Verdünnungen.

2) Ca. 50-proz. Alkohol desinfiziert von den rein spirituosen Flüssigkeiten am besten; in bedeutend höherer oder geringerer Konzentration nimmt die Desinfektionskraft ab.

3) Antiseptika, die in wässerigen Lösungen mehr oder minder wirksam sind, verlieren ihre desinfizierende Eigenschaft, wenn sie in hochprozentuiertem Alkohol gelöst werden (Koch); dagegen wirken Sublimat, Karbol, Lysol und Thymol in 50-proz. spirituöser Lösung besser desinfizierend als (in gleicher Konzentration) in Wasser gelöst.

Eine Erhöhung der Desinfektionswirkung des Formalins durch Lösung desselben in 50-proz. Alkohol statt in Wasser hat ferner Walter[1]) festgestellt.

Ebenso teilt Poten[2]) auf Grund von Desinfektionsversuchen mit, daß verdünnter (48-proz.) Alkohol vielleicht mit noch besserem Erfolge zur Desinfektion der Hände benutzt werden könne als der starke Weingeist.

Von größter Bedeutung für die uns beschäftigende Frage ist dann die verdienstvolle Arbeit von Krönig und Paul[3]), die uns über den Effekt des Alkoholzusatzes zu wässerigen Lösungen von Desinfektionsmitteln noch wichtige Aufklärungen gibt.

Krönig und Paul stellten Versuche mit sowohl in Aethyl- als auch in Methylalkohol gelösten chemischen Mitteln an.

Bei wässerigen Silbernitrat- und Mercurichloridlösungen wurde durch Alkoholzusatz eine Verstärkung der Desinfektionskraft herbeigeführt, die beim Silbernitrat eine viel bedeutendere ist als beim Mercurichlorid. Ferner wirkt das Silbernitrat in 50-proz. und das Quecksilberchlorid in 25-proz. Alkohol am besten. Beim Silbernitrat tritt die verstärkte desinfizierende Wirkung schon bei der 10-proz. alkoholischen Lösung ein, während beim Sublimat nach einer vorübergehenden Abschwächung der Desinfektion die Verstärkung erst bei 20 Proz. einsetzt.

In konzentrierten Alkohollösungen wirken Silbernitrat und Sublimat sehr wenig desinfizierend; insbesondere ist die Einwirkung auf Milzbrandsporen gleich Null.

---

1) Walter, R., Formalin als Desinfektionsmittel. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXI.)

2) Poten, W., Die chirurgische Asepsis der Hände. Berlin 1897.

3) Krönig und Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXV. 1897.)

Weiterhin konstatierten Krönig und Paul für wässerige Phenol- und Formaldehydlösungen bei geringem Zusatz von Alkohol eine beträchtliche Herabsetzung der Desinfektionswirkung.

Die Desinfektionskraft der wässerigen Metallsalzlösungen machen die beiden Autoren bekanntlich abhängig von der Höhe des Dissoziationsgrades; je höher der Dissoziationsgrad, desto größer die Desinfektionswirkung. Dagegen: „In Alkohol ..... und ähnlichen Lösungsmitteln sind Metallsalze außerordentlich wenig dissoziiert und demgemäß ist auch ihre Wirkung auf Bakterien nur gering."

Krönig und Paul fassen ihre Desinfektionserfolge mit den alkoholischen Lösungen kurz dahin zusammen:

„Die bekannte Tatsache, daß die in absolutem Aethylalkohol, Methylalkohol ....... gelösten Körper fast ohne jede Wirkung auf Milzbrandsporen sind, konnten wir bei den von uns geprüften Lösungen bestätigen.

Die Desinfektionswirkung wässeriger Lösungen von Silbernitrat und Mercurichlorid wird durch Zusatz von bestimmten Mengen von Aethylalkohol, Methylalkohol ....... wesentlich gesteigert.

Die Desinfektionswirkung wässeriger Lösungen von Phenol und Formaldehyd nimmt mit jedem Zusatz von Aethylalkohol und Methylalkohol ab."

Zu anderen Resultaten kamen in ihren Versuchen Minervini [1]) und Bertarelli [2]).

Minervini kommt auf Grund seiner Versuche zu folgendem Schlußergebnis:

1) Der Aethylalkohol hat im allgemeinen eine sehr geringe bakterizide Wirkung. Bei normaler Temperatur vermag er die nicht sporogenen Keime zu vernichten, nicht aber die sporogenen. Seine Aktion ist in den mittleren Konzentrationen (50—70 Proz.) viel kräftiger als in den geringeren oder höheren; geradezu minimal in absolutem Alkohol.

2) Der siedende oder unter Druck erhitzte Alkohol wird im selben Maße stärker bakterizid wirken als die Wasserperzentualität, die er enthält, größer ist.

3) Die antiseptischen Substanzen (Karbol, Sublimat, Chromsäure, Silbernitrat), in Alkohol gelöst, verlieren merklich ihre Kraft im Vergleiche zu den wässerigen Lösungen. Die bakterizide Wirkung der alkoholischen Lösungen ändert sich im umgekehrten Verhältnisse zu dem Grade des Alkohols.

Aehnlich lauten die Ergebnisse Bertarellis. Die stärkste Wirkung erzielte Bertarelli mit dem 50-proz. Alkohol, eine weniger starke mit der 70- und 25-proz. Lösung. Als fast unwirksam zeigte sich der 80- resp. 99-proz. Alkohol.

Bei der Prüfung von Alkoholdämpfen fand Brunn [3]) die 75- und 50-proz. Konzentration als wirksam, weniger schon die niedriger prozentuierten Lösungen. 95-proz. Alkohol war unwirksam.

Nach den Versuchen von Salzwedel nnd Elsner [4]) kommt dem

---

1) Minervini, Ueber die bakterizide Wirkung des Alkohols. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX.)

2) Bertarelli, Potere battericida dell' alcool etilico. (Policlinico 7. Zit. nach Weigl, Archiv f. Hygiene. Bd. XLIV. Heft 4.)

3) v. Brunn, W., Alkoholdämpfe als Desinfektionsmittel. (Centralbl. f. Bakteriologie etc. Bd. XXVIII.)

4) Salzwedel und Elsner, Ueber die Wichtigkeit des Alkohols als Desinfektionsmittel. (Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 23.)

55-proz. Aethylalkohol eine bakterizide Wirkung gegenüber angetrockneten Bakterien zu, dem absoluten Alkohol dagegen nicht.

Buchner, Fuchs und Megele[1]) heben in der im Archiv für Hygiene. Bd. XL. erschienenen Arbeit die geringe desinfizierende Wirksamkeit des Aethylalkohols gegenüber den anderen Alkoholen, wie dem Methylalkohol, Propylalkohol etc., hervor. Auch erwiesen sich die mittleren, z. B. 60-proz. Konzentrationen des Aethylalkohols stets wirksamer d. h. schädigender als der Alkohol im absoluten Zustande.

Die jüngste auf dem Gebiete der Alkoholdesinfektion veröffentlichte Arbeit ist, soweit ich die Literatur kenne, die von Weigl[2]). Derselbe kommt zu dem Schluß, daß der 80- und 90-proz. Alkohol eine den niedrigen Konzentrationen **überlegene** Wirkung zeigt, wenn ein bestimmter Wassergehalt der Bakterien vorhanden ist und die Entstehung von gröberen Niederschlägen vermieden wird. Ferner stellte Weigl die wichtige Tatsache fest, daß die Wirksamkeit des Alkohols durch Ansäuerung oder Alkalisierung desselben gesteigert werden könne.

„So wirkten der alkalische Seifenspiritus viel energischer als der einfache 50-proz. und der saure 80-proz. Alkohol besser als der einfache 80-proz.“

Aus diesen Literaturangaben, die auf Vollständigkeit keinen Anspruch machen, mit denen aber wohl die wichtigsten Arbeiten auf unserem Gebiete erwähnt sind, scheint mir zweierlei mit Sicherheit hervorzugehen: Erstens die höhere Desinfektionsfähigkeit des etwa 50-proz. Alkohols gegenüber schwächeren oder stärkeren Lösungen desselben Mittels. Die höhere Wirkung auch gegenüber stärkeren Konzentrationen erklärt sich aus der mechanischen Beeinflussung, Fällungen etc., welche die Bakterienkulturen durch hochprozentigen Alkohol erleiden. Zweitens die Tatsache, daß die chemischen Desinfektionsmittel sich in alkoholischen Lösungen sehr verschieden in ihrer Desinfektionswirkung verhalten, d. h. daß es Chemikalien gibt, welche in alkoholischer Lösung stärker desinfizierend wirken als in wässerigen; und andere Chemikalien, die umgekehrt in wässeriger Lösung stärkere Wirksamkeit als in alkoholischer entfalten. Zu letzteren gehört jedenfalls Karbolsäure und ihre Homologen. Welche bekannteren Desinfektionsmittel zu der ersteren Gruppe gehören, ob neben Silbernitrat auch das Sublimat dazu gehört, das scheint uns aus den bisherigen Angaben noch nicht mit voller Sicherheit entnehmbar zu sein.

Aus den sich zum Teil widersprechenden Angaben der Autoren hinsichtlich mehrerer Einzelheiten scheint mir aber auch die Berechtigung hervorzugehen, die Desinfektionsfrage, soweit sie den Alkohol als Desinfektions- und als Lösungsmittel betrifft, keineswegs als erledigt anzusehen. Und so wird denn meine eingangs bereits erwähnte, aus meinen Händedesinfektionsversuchen sich ergebende Prüfung des Lysoforms, Bacillols und Sublamins in alkoholischer und wässeriger Lösung gegenüber Bakterienreinkulturen vielleicht einen nicht unerwünschten Beitrag zur Erledigung der oben präzisierten Fragen darstellen können.

Da sich in meinen Händedesinfektionsversuchen die 2-proz. Lyso-

---

1) Buchner, Fuchs und Megele, Wirkungen von Methyl-, Aethyl- und Propylalkohol auf den arteriellen Blutstrom bei äußerer Anwendung. (Archiv f. Hyg. Bd. XL.)

2) Weigl, Untersuchungen über die bakterizide Wirkung des Aethylalkohols. (Archiv f. Hygiene. Bd. XLIV. Heft 4.)

form- und Bacillollösung, die 2-prom. Sublaminlösung als wirksamste Konzentration in absolutem Alkohol erwiesen hatten, so habe ich nur diese Konzentrationen in alkoholischer und zur Kontrolle natürlich auch in wässeriger Lösung verwendet.

Als alkoholische Lösung wurde 99-proz. Alkohol verwendet. Die Chemikalien wurden vor dem Zusatz zum Alkohol in wenig Wasser (ca. 4—5 ccm) gelöst und dann dem Alkohol zugesetzt, so daß ein etwa 97—98-proz. Alkohol resultierte.

Im einzelnen gestalteten sich meine Versuche folgendermaßen:

Ich ließ die genannten Desinfektionsgemische auf mehrere Bakterienarten einwirken, die in verschiedener Weise disponiert waren, und zwar einmal auf in Lösung befindliche, dann auf an sterilen Seidenfäden und an sterilen böhmischen Granaten angetrocknete Keime.

Meine Testobjekte stellte ich in folgender Weise her:

Bei der Verdünnungsmethode wurden flüssige Kulturen von 24-stündiger Wachstumsdauer mit gleichen Mengen der frisch bereiteten Desinficientien von doppelt so hohem Gehalt als unten angegeben (s. unten) zusammengebracht, beides aufeinander verschieden lange Zeit einwirken gelassen und nach Ablauf der angegebenen Perioden Proben zum Ausstreichen auf Agar mit einer sterilen Platinöse entnommen.

Daneben kamen bei diesen Versuchen jedesmal noch zwei andere Methoden zur Verwendung:

Ich ließ die verschiedenen Testobjekte, 24 Stunden alte Kulturen, das eine Mal an Seidenfäden antrocknen, das andere Mal an böhmischen Granaten. Seidenfäden und Granaten blieben zu diesem Zwecke nach vorheriger Sterilisation im Trockenschranke ca. 2—3 Stunden in der betreffenden Kulturflüssigkeit liegen, wurden sodann aus derselben herausgenommen und in sterile Petrische Schälchen gelegt und zum Trocknen bis zum folgenden Tage im Brütofen bei ca. 37° C gehalten, so daß sie nach etwa 16—20 Stunden zum Versuch benutzt werden konnten. Es kamen also mit Absicht auch angetrocknete Bakterienkulturen zur Verwendung, bei denen nach den Ahlfeld-Vahleschen Versuchen eine Abtötung schwieriger, erst nach längerer Zeit zu erwarten war.

Die Seidenfäden lagen während des Versuches am Boden von Glasgefäßen in den auf ihren Desinfektionswert zu prüfenden Lösungen; die Granaten hingegen waren auf feinen Haarnetzen derart untergebracht, daß die Desinfektionsflüssigkeit von allen Seiten an die an den Granaten angetrockneten Keime heran konnte. Anderenfalls würde, wenn die Granaten mit einer ihrer Flächen auf einem Glas- etc. Boden aufruhen, das Desinficiens nur ungenügend an die Bakterien dieser Fläche herankommen. Wir würden keine brauchbaren Resultate erzielen (s. meine oben citierte Desinfektionsarbeit Tabelle 14 und 15). Außerdem ist auf die ziemlich gleiche Größe der einzelnen Granaten Gewicht zu legen.

Solche Haarnetzbänkchen, wie ich sie kurz nennen will, stellte ich mir folgendermaßen her:

Es wurde früher aus einem vielleicht 1 cm hohen Korke aus der Mitte so viel mit einem scharfen Messer herausgeschnitten, daß über den Ausschnitt bequem ein sehr feines Haarnetz gespannt werden konnte, welches an beiden Endpfeilern des Korkes mit Heftzwecken befestigt wurde. Ein solches Haarnetzbänkchen wurde durch ein quer über dasselbe hinweggehendes schmales Hölzchen in einer Glasschale am Boden

gehalten, so daß es durch die später in die Glasschale zu gießende Desinfektionsflüssigkeit nicht gehoben werden konnte.

Selbstverständlich muß die das Bänkchen enthaltende Glasschale vor dem Versuche sterilisiert werden, was im Kochschen Dampfkochtopf (1 Stunde im strömenden Dampf) ohne wesentlichen Nachteil für das Haarnetzbänkchen geschehen kann.

Neuerdings habe ich mir die Haarnetzbänkchen durch den Instrumentenmacher, Herrn Holzhauer in Marburg, in folgender Weise herstellen lassen:

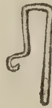
Ich ließ kleine Klammern aus Neusilber anfertigen, die auf den Rand eines beliebigen Schälchens von irgend einem Durchmesser aufgesetzt werden können. Der zum Lumen der Schale hinsehende Teil einer solchen Klammer enthält 4—6 nach außen und oben umgebogene Zinken. Die 6-zinkigen sind die bequemeren. In diese Zinken wird einfach ein dem Durchmesser der zur Verwendung kommenden Schale entsprechend langes und der Breite der Klemme entsprechend breites Haarnetz (bei jedem Friseur erhältlich) eingehakt, das aus feinsten Fädchen bestehen muß. Mit Hülfe dieser Klemmen kann man jedes Netz bequem quer durch die Lichtung einer jeden Schale spannen; das Haarnetzchen kann, auf diese Weise befestigt, durch die zu prüfende Lösung niemals gehoben werden noch zu Boden sinken.

Die beiden Seitenflächen der Klemmen müssen nach oben divergieren; sie dürfen nicht der Glaswand unten und oben gleicheng anliegen, da sonst leicht die Flüssigkeit aus dem Schälchen herausgehebert werden kann; wenngleich diese Tatsache für kurz dauernde Versuche, während welcher das Versuchsschälchen stets beobachtet werden kann, ohne Bedeutung ist, so könnte dieses Heraushebern der Desinfektionsflüssigkeit die Stunden und Tage dauernden Versuche, die man nicht immer unter Augen haben kann, unter Umständen wertlos und unbrauchbar machen.

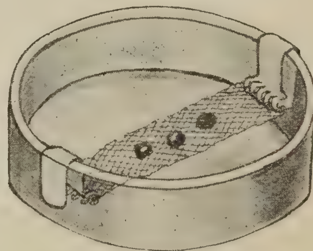
Schließlich sei noch hervorgehoben, daß feinste Platinnetze statt der Harnnetze sich bei in größerem Maßstabe vorgenommenen Versuchen schon wegen des hohen Preises nicht eignen.

Auf diesem „Haarnetzbänkchen“ liegen die Granaten mit den an ihnen angetrockneten Bakterien. Um die Flüssigkeit vor Infektion von seiten der Außenluft zu bewahren, kann ein derartiges Schälchen leicht zugedeckt werden.

Die folgenden Zeichnungen mögen zur Erläuterung dienen:

Klemmen.



Haarnetzbänkchen.

Was die weitere Behandlung der Testobjekte betrifft, so wurden nach verschieden langer Einwirkungsdauer die Seidenfäden oder die Granaten in ca. 10 ccm steriler Bouillon übermittelt und nun das Wachstumsergebnis abgewartet.

**Tabelle I.** **Bacillus typhi abdominalis.**

**2-proz. Lysoform-Alkohol.**

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | | | | | |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Granaten | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | | | | | |

| Einwirkungszeit in Min. | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

**2-proz. Bacillol-Alkohol.**

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | | | | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | — | — | — | | | | | | | | | | |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | | | | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | — | | | | | | | | | | |

**2-prom. Sublamin-Alkohol.**

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | + | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | + | — | — | — | — | — | — |

**Mittelzahlen:**

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 13 |
| Granaten | 5 |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 15 |
| Granaten | 6 |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 4 |
| Granaten | 2 |

Tabelle II. Vibrio cholerae asiaticae:

2-proz. Lysoform-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

2-proz. Bacillol-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | + | + | — | — | — | — |

2-prom. Sublamin-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

Mittelzahlen:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 3 |
| Granaten | 1 |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 2 |
| Granaten | 1 |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 1/2 |
| Granaten | 1/2 |

## Tabelle III. Dysenteriebacillus:

### 2-proz. Lysoform-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | | | |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | + | + | — | — | — | — | | | |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | — | + | — | — | — | — | | | |

### 2-proz. Bacillol-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | | | |
| Seidenfäden | | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | | + | + | + | + | + | + | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | — | — | — | — | — | | | |
| Seidenfäden | | + | + | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | | + | + | + | + | + | — | — | — |

### 2-prom. Sublamin-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

### Mittelzahlen:

2-proz. Lysoform-Alkohol:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 6 |
| Granaten | 1 |

2-proz. Bacillol-Alkohol:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1 |
| Seidenfäden | 6 |
| Granaten | 6 |

2-prom. Sublamin-Alkohol:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 1 |
| Granaten | 1/2 |

Tabelle IV.

Diphtheriebacillus:

2-proz. Lysoform-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | + | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | |
| Seidenfäden | | + | + | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | | + | + | + | + | — | — | | |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | |
| Seidenfäden | | + | + | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | — | — | — | — | | |

2-proz. Bacillol-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | + | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | |
| Seidenfäden | | + | + | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | | + | + | + | — | — | — | | |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | |
| Seidenfäden | | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | + | — | — | — | — | — | — | | |

2-prom. Sublamin-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

Mittelzahlen:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten (Lysoform) |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 6 |
| Granaten | 3 |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten (Bacillol) |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 4 |
| Granaten | 2 |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten (Sublamin) |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 1/2 |
| Granaten | 1/2 |

Tabelle V.

# Staphylococcus pyogenes aureus:

## 2-proz. Lysoform-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granat. | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — | | | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Granat. | | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | | | | | |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — | | | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Granat. | | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | | | | | |

| Einwirkungszeit in Min. | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Min. |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 14 |
| Granaten | 7 |

## 2-proz. Bacillol-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granat. | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | | | | | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | | | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granat. | | + | + | + | + | + | + | — | — | | | | | | | | | | |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | | | | | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — |
| Granat. | | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | | | | | | | | |

Mittelzahlen:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Min. |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 16 |
| Granaten | 6 |

## 2-prom. Sublamin-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| Granat. | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granat. | + | + | + | + | + | — | — | — | | | | | |

| Einwirkungszeit in Min. | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granat. | + | + | — | + | — | — | — | — | | | | | |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Min. |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 11 |
| Granaten | 4 |

## Tabelle VI.

# Sporenfreie Milzbrandbacillen:

### 2-proz. Lysoform-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 13 | 14 | 20 | 25 | 30 | 40 | 50 | 60 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − |
| Granaten | + | + | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |

| Einwirkungszeit in Minuten | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | − | − | − | − | − | − | | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | − | − | − | − |
| Granaten | + | + | + | − | − | − | − | − | | | | | | | | |

| Einwirkungszeit in Minuten | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | − | − | − | − | − | | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | | + | + | + | + | − | + | − | − | − | − | − | − |
| Granaten | + | + | + | − | − | − | − | − | | | | | | | | |

### 2-proz. Bacillol-Alkohol.

| | Einwirkungszeit in Minuten | | | | | | | | | | | | Einwirkungszeit in Stunden | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Einwirkungszeit in Minuten resp. St. | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 10 |
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | − | − | − | − |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |

| | Einwirkungszeit in Minuten | | | | | Einwirkungszeit in Stunden | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Einwirkungszeit in Minuten resp. St. | 30 | 40 | 50 | 60 | 90 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Lösung | + | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | − | − | − | − | | | | | |
| Granaten | + | + | + | + | − | − | − | − | − | | | | | |

| | Einwirkungszeit in Minuten | | | | | Einwirkungszeit in Stunden | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Einwirkungszeit in Minuten resp. St. | 30 | 40 | 50 | 60 | 90 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Lösung | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| Seidenf. | + | + | + | + | − | − | − | − | − | | | | | |
| Granaten | + | + | + | + | − | − | − | − | − | | | | | |

### 2-prom. Sublamin-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | − | − |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | + | − |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | − | − | − | − | − | − | | | | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | | + | + | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − |
| Granaten | | | | | + | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | − | − | − | − | − | − | | | | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | | + | + | + | + | + | + | − | − | − | − | − | − |
| Granaten | | | | | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − |

### Mittelzahlen:

2-proz. Lysoform-Alkohol:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 6 |
| Seidenfäden | 14 |
| Granaten | 6 |

2-proz. Bacillol-Alkohol:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten | Abtötungszeit in Stunden |
|---|---|---|
| Lösung | | ca. 2 1/2 |
| Seidenfäden | | ca. 1 1/2 |
| Granaten | ca. 80 | |

2-prom. Sublamin-Alkohol:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 9 |
| Granaten | 8 |

## Tabelle VII.

### Milzbrandsporen:

#### 2-proz. Lysoform-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Stunden | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granat. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |

| Einwirkungszeit in Stunden | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| Granat. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Stunden | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | — | — | — | — |
| Granat. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Std. |
|---|---|
| Lösung | 15 |
| Seidenfäden | 17 |
| Granaten | 15 |

#### 2-proz. Bacillol-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Stunden resp. Tagen | Einwirkungszeit in Stunden | | | | | | | | | | | | | Einwirkungszeit in Tagen | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 3 | 5 | 10 | 15 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 71 | 72 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

| Einwirkungszeit in Stunden resp. Tagen | Einwirkungszeit in Stunden | | | | Einwirkungszeit in Tagen | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 50 | 60 | 70 | 72 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

| Einwirkungszeit in Stunden resp. Tagen | Einwirkungszeit in Stunden | | | | Einwirkungszeit in Tagen | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 50 | 60 | 70 | 72 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

Mittelzahlen:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Stunden | Abtötungszeit in Tagen |
|---|---|---|
| Lösung | | ca. 7 |
| Seidenfäden | | nicht in 10 |
| Granaten | | nicht in 10 |

#### 2-prom. Sublamin-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Stunden | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| Granat. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Stunden | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — |
| Granat. | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Stunden | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — |
| Granat. | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Stunden |
|---|---|
| Lösung | 7 |
| Seidenfäden | 11 |
| Granaten | 10 |

Alle Versuche wurden 3mal, meist zu verschiedenen Zeiten, angestellt und am Ende die jedesmalige Mittelzahl berechnet. Die mehrmalige Wiederholung der Versuche stellte sich als Notwendigkeit heraus, nachdem schon bei der ersten Wiederholung sich die Ergebnisse mit denen der ersten Versuchsreihe nicht ganz deckten. Wie aus der Tabelle ersichtlich, mußten gerade die Versuche, bei denen an Seidenfäden angetrocknete Kulturen als Testobjekte dienten, wiederholt erneuert werden, um ein brauchbares Resultat zu geben.

Sämtliche mit den Testobjekten beschickte Bouillonröhrchen blieben zwecks Beobachtung 8 Tage bei 37° C im Brütofen stehen. Erst dann wurde das Resultat in mein Protokoll eingezeichnet.

In dieser Weise wurde die Wirkung von 2-proz. Lysoform-Alkohol, 2-proz. Bacillol-Alkohol und 2-prom. Sublamin-Alkohol geprüft auf:

Bacillus typhi abdominalis,
Vibrio cholerae asiaticae,
Bacillus dysenteriae,
Diphtheriebacillus,
Staphylococcus pyogenes aureus,
Sporenfreie Milzbrandbacillen und
Milzbrandsporen.

Das Prüfungsergebnis enthalten die Tabellen I—VII.

Es tötet ab (nach den Mittelzahlen):

| | 2 °/₀ Lysoformalkohol | 2 °/₀ Bacillolalkohol: | 2 °/₀₀ Sublaminalkohol: |
|---|---|---|---|
| a) Bac. typhi abdominalis: | | | |
| in Lösung | in $^1/_2$ Min. | in $^1/_2$ Min. | in $^1/_2$ Min. |
| an Seidenfäden | „ 13 „ | „ 15 „ | „ 4 „ |
| an Granaten | „ 5 „ | „ 6 „ | „ 2 „ |
| b) Vibrio cholerae asiaticae: | | | |
| in Lösung | „ $^1/_2$ „ | „ $^1/_2$ „ | „ $^1/_2$ „ |
| an Seidenfäden | „ 3 „ | „ 2 „ | „ $^1/_2$ „ |
| an Granaten | „ 1 „ | „ 1 „ | „ $^1/_2$ „ |
| c) Dysenteriebacillus: | | | |
| in Lösung | „ $^1/_2$ „ | „ 1 „ | „ $^1/_2$ „ |
| an Seidenfäden | „ 6 „ | „ 6 „ | „ 1 „ |
| an Granaten | „ 1 „ | „ 6 „ | „ $^1/_2$ „ |
| d) Diphtheriebacillus: | | | |
| in Lösung | „ $^1/_2$ „ | „ $^1/_2$ „ | „ $^1/_2$ „ |
| an Seidenfäden | „ 6 „ | „ 4 „ | „ $^1/_2$ „ |
| an Granaten | „ 3 „ | „ 2 „ | „ $^1/_2$ „ |
| e) Staphylococcus pyog. aureus: | | | |
| in Lösung | „ $^1/_2$ „ | „ $^1/_2$ „ | „ $^1/_2$ „ |
| an Seidenfäden | „ 14 „ | „ 16 „ | „ 11 „ |
| an Granaten | „ 7 „ | „ 6 „ | „ 4 „ |
| f) Sporenfreie Milzbrandbacillen: | | | |
| in Lösung | „ 6 „ | „ ca. 2$^1/_2$ Std. | „ $^1/_2$ „ |
| an Seidenfäden | „ 14 „ | „ „ 1$^1/_2$ „ | „ 9 „ |
| an Granaten | „ 6 „ | „ „ 80 Min. | „ 8 „ |
| g) Milzbrandsporen: | | | |
| in Lösung | „ 15 Std. | „ „ 7 Tagen | „ 7 Std. |
| an Seidenfäden | „ 17 „ | „ ? } nicht nach 10 Tagen | „ 11 „ |
| an Granaten | „ 15 „ | „ ? } nicht nach 10 Tagen | „ 10 „ |

Demnach kommt die größte bakterizide Wirkung nnter den drei zu prüfenden Flüssigkeiten unstreitig dem 2-prom. Sublamin-Alkohol zu.

Die Wirkung des 2-proz. Lysoform-Alkohols und des 2-proz. Bacillol-Alkohols steht der des 2-prom. Sublaminalkohols wesentlich nach.

Der Sublaminalkohol vernichtet:

| | in Lösung: | an Granaten: | an Seidenfäden: |
|---|---|---|---|
| Vibrio cholerae aciaticae | in 1/2 Min. | in 1/2 Min. | in 1/2 Min. |
| Diphtheriebacillus | „ 1/2 „ | „ 1/2 „ | „ 1/2 „ |
| Dysenteriebacillus | „ 1/2 „ | „ 1/2 „ | „ 1 „ |
| Bac. typhi abdominalis | „ 1/2 „ | „ 2 „ | „ 4 „ |
| Staphyl. pyog. aureus | „ 1/2 „ | „ 4 „ | „ 11 „ |
| Sporenfreie Milzbrandbacillen | „ 1/2 „ | „ 8 „ | „ 9 „ |
| Milzbrandsporen | „ 7 Std. | „ 10 Std. | „ 11 Std. |

Der Lysoform- und Bacillolalkohol verhalten sich gegenüber den fünf ersten Testobjekten ungefähr gleich. Eine wesentliche Verschiedenheit in ihrer Wirkung tritt aber hervor, sobald man die Desinficientien auf resistentere Bakterienformen, auf Milzbrandbacillen ohne Sporen und besonders auf Milzbrandsporen, einwirken läßt.

Resultat:

2-proz. Lysoform-Alkohol.

| | in Lösung: | an Granaten: | an Seidenfäden: |
|---|---|---|---|
| Vibrio cholerae asiaticae | in 1/2 Min. | in 1 Min. | in 3 Min. |
| Dysenteriebacillus | „ 1/2 „ | „ 1 „ | „ 6 „ |
| Diphtheriebacillus | „ 1/2 „ | „ 3 „ | „ 6 „ |
| Bac. typhi abdominalis | „ 1/2 „ | „ 5 „ | „ 13 „ |
| Staphyl. pyog. aureus | „ 1/2 „ | „ 7 „ | „ 14 „ |
| Sporenfreie Milzbrandbacillen | „ 6 „ | „ 6 „ | „ 14 „ |
| Milzbrandsporen | „ 15 Std. | „ 15 Std. | „ 17 Stunden |

2-proz. Bacillol-Alkohol.

| | in Lösung: | an Granaten: | an Seidenfäden: |
|---|---|---|---|
| Vibrio cholerae aciaticae | in 1/2 Min. | in 1 Min. | in 2 Min. |
| Dysenteriebacillus | „ 1 „ | „ 6 „ | „ 6 „ |
| Diphtheriebacillus | „ 1/2 „ | „ 2 „ | „ 4 „ |
| Bac. typhi abdominalis | „ 1/2 „ | „ 6 „ | „ 15 „ |
| Staphyl. pyog. aureus | „ 1/2 „ | „ 6 „ | „ 16 „ |
| Sporenfreie Milzbrandbacillen | „ ca. 2 1/2 St. | „ 80 „ | „ 1 1/2 Std. |
| Milzbrandsporen | „ „ 7 Tagen | „ ? „ (nicht nach 10 Tagen) | „ ? „ (nicht nach 10 Tagen) |

Gegenüber beiden Milzbrandtestobjekten entfaltet der Lysoformalkohol eine schnellere Wirkung wie der Bacillol-Alkohol. Fällt diese Tatsache schon bei den vegetativen Formen des Milzbranderregers auf, so in noch auffallenderer Weise bei der Einwirkung der Lysoform- resp. Bacillol-Alkohol-Lösungen auf Milzbrandsporen. Nach meinen Versuchen vernichtet der 2-proz. Lysoform-Alkohol die Milzbrandsporen:

In Lösung in durchschnittlich 15 Stunden, an Seidenfäden und Granaten in 17 resp. 15 Stunden.

Dahingegen zeigte sich bei Einwirkung von 2-proz. Bacillol-Alkohol auf Milzbrandsporen bei Verwendung der Verdünnungsmethode erst nach ca. 7 Tagen kein Wachstum mehr. Setzte ich jedoch die an Seidenfäden und Granaten angetrockneten Sporen derselben Lösung aus, so kamen selbst nach 10-tägiger Einwirkungsdauer noch teilweise üppige Kulturen zum Vorschein.

Aber noch auf einen zweiten Punkt möchte ich an dieser Stelle aufmerksam machen, der sich aus meinen Versuchen ergibt.

Wir konstatieren regelmäßig einen Unterschied in der Wirkung ein und derselben Desinfektionslösung, je nachdem dieselbe auf in Lösung befindliche oder an Seidenfäden resp. an Granaten angetrocknete Bakterien einwirkt.

Die vernichtende Wirkung des Desinficiens tritt naturgemäß am schnellsten ein, wenn wir uns der ersten Methode, der Verdünnungsmethode, bedienen. Schon in meiner ersten Arbeit über bakteriologische Prüfungen desinfizierter Hände (Lysoform-Alkohol etc.) habe ich Gelegenheit genommen, mit einigen Worten auf die Methodik dieser Vorversuche einzugehen. Es ist nicht zu leugnen, daß bei der Ueberimpfung von dem Desinficiens mit auf den Nährboden übertragen wird, was entwickelungshemmend wirken kann; außerdem können in der zu übertragenden kleinen Probe keine lebensfähigen Keime mehr, in der übrigen Flüssigkeit noch sehr viele vorhanden sein. Diese Methodik ist daher nicht ganz einwandfrei.

Aber auch die Seidenfadenmethode hat ihre Nachteile. Wir sehen, daß erst nach relativ langer Einwirkungsdauer die angetrockneten Keime nicht mehr zur Entwickelung gelangen. Die Seidenfäden setzen nämlich dem Eindringen der Desinfektionsflüssigkeit einen sehr großen Widerstand entgegen. Die im Inneren eines solchen Fadens vorhandenen Keime kommen erst nach einer viel zu langen Zeit mit dem Desinficiens in Berührung, wenn die außen am Faden haftenden Bakterien vielleicht schon lange abgetötet sind. Daraus resultieren wiederum ungenaue Resultate, und zwar haben wir hier im Gegensatz zur Verdünnungsmethode eine verzögerte Wirkung.

Als die beste Methode, die bakterienvernichtende Wirkung eines Desinficiens festzustellen, hat sich nach meinen Erfahrungen diejenige ergeben, welche hauptsächlich von Krönig und Paul in die Praxis eingeführt ist, und bei der als Menstruum böhmische Granaten dienen, an denen Bakterien angetrocknet haften.

Diese von mir etwas modifizierte Granatenmethode füllt die Lücke aus, welche bisher zwischen der Verdünnungs- und der Seidenfadenmethode gelassen war. Meine Tabellen zeigen fast regelmäßig, daß die bakterizide Wirkung des betreffenden Desinficiens bei Verwendung der Granatenmethode langsamer als bei der Verdünnungs-, jedoch schneller als bei der Seidenfadenmethode eintritt. Nach meinen obigen Erörterungen muß es so sein; es wird deshalb der Granatenmethode mit Einschiebung des Bänkchens zur Aufnahme der Granate, wie ich sie benutzt habe, vor den anderen Methoden der Vorzug exakterer Arbeit eingeräumt werden müssen.

Nach meinen Erfahrungen, die in dieser und den oben erwähnten Arbeiten veröffentlicht sind, liefert einzig und allein diese etwas modifizierte Granatenmethode einwandfreie Resultate.

Die in Tabelle 1—7 inkl. registrierten Versuche beschäftigten sich nur mit den alkoholischen Lösungen von Lysoform, Bacillol und Sublamin.

Zur Kontrolle habe ich dieselben sämtlich und zwar unter genauer Aufrechterhaltung der Versuchsanordnung wiederholt; nur kamen jetzt statt der alkoholischen die wässerigen Desinfektionslösungen in 2-proz. resp. 2-prom. Konzentration zur Verwendung. Auch hier wurden alle Versuche je 3mal angestellt und wiederum die Mittelzahlen berechnet und letztere zum Vergleich verwertet.

Tabelle 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14.

Tabelle VIII.

# Bacillus typhi abdominalis:

## 2-proz. Lysoform-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 8 | 10 | 12 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | − |
| Granaten | + | + | + | + | + | − | − | − | − | − | − |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | − | − | − | − | − | − | | | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | − | − | − |
| Granaten | | | + | + | + | + | − | − | − | − | | | | | | | | | | |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − | | | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | − | − | − | − |
| Granaten | | | + | + | + | − | − | − | − | − | | | | | | | | | | |

## 2-proz. Bacillol-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 8 | 10 | 12 | 15 | 16 | 18 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | − | − | − |
| Granaten | + | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | − | − | − | − | − | − | | | | | | | | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | − | − | − | − |
| Granaten | | | | + | + | + | + | − | − | − | − | | | | | | | | | | |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | − | − | − | − | − | − | | | | | | | | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | | | | | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | − |
| Granaten | | | | + | + | + | + | + | − | − | | | | | | | | | | | |

## 2-prom. Sublamin-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | − | − | − | − | − | − | − | − | − |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | + | − | − |
| Granaten | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | − | − | − | − | − | − | | | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | + | + | + | + | + | + | − | − | − | − | − |
| Granaten | | + | + | + | + | + | − | − | − | − | − | | | | | |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | − | − | − | − | − | − | | | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − | − |
| Granaten | | + | + | + | − | − | − | − | − | − | − | | | | | |

## Mittelzahlen:

2-proz. Lysoform-Wasser

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 4 |
| Seidenfäden | 17 |
| Granaten | 6 |

2-proz. Bacillol-Wasser

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 18 |
| Granaten | 6 |

2-prom. Sublamin-Wasser

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 9 |
| Granaten | 4 |

Tabelle IX.

**Vibrio cholera asiaticae:**

2-proz. Lysoform-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | — | — |
| Seidenfäden | + | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

2-proz. Bacillol-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | + | — | — | — | — | — |

2-prom. Sublamin-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

Mittelzahlen:

2-proz. Lysoform-Wasser

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 2 |
| Seidenfäden | 2 |
| Granaten | 1/2 |

2-proz. Bacillol-Wasser

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 3 |
| Granaten | 1/2 |

2-prom. Sublamin-Wasser

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 1 |
| Granaten | 1/2 |

Tabelle X.

## Dysenteriebacillus:

### 2-proz. Lysoform-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | ½ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | ½ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | | | | | + | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | | | | + | + | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | ½ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | — | — | — | — | — | | |
| Seidenfäden | | | | | + | + | — | — | — | — | — |
| Granaten | | | | + | + | + | — | — | — | — | — |

### 2-proz. Bacillol-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | ½ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | ½ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | + | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | + | + | + | — | — | — | — | — | — | | |

| Einwirkungszeit in Minuten | ½ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | + | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | + | — | — | — | — | — | — | | | | |

### 2-prom. Sublamin-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | ½ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | ½ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | ½ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | + | + | — | — | — | — |

### Mittelzahlen:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 4 |
| Seidenfäden | 7 |
| Granaten | 6 |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | ½ |
| Seidenfäden | 8 |
| Granaten | 2 |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | ½ |
| Seidenfäden | |
| Granaten | 1 |

Tabelle XI.

## Diphtheriebacillus:

### 2-proz. Lysoform-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 5 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 5 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | — | — | — | — | — | | | | |
| Seidenfäden | | | | + | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | — | — | — | — | — | | |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 5 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | | | | |
| Seidenfäden | | | | + | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | — | — | — | — | — | — | | |

### 2-proz. Bacillol-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | + | + | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | | | | |
| Seidenfäden | | | + | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | | + | + | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | | | | |
| Seidenfäden | | | | + | + | + | — | — | — |
| Granaten | | + | — | — | — | — | — | | |

### 2-prom. Sublamin-Wasser

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | — | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | + | — | — | — | — | — |

### Mittelzahlen:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 2 |
| Seidenfäden | 9 |
| Granaten | 2 |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 7 |
| Granaten | 3 |

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 1/2 |
| Seidenfäden | 1 |
| Granaten | 1/2 |

Tabelle XII.

# Staphylococcus pyogenes aureus:

## 2-proz. Lysoform-Wasser.

| | Einwirkungzeit in Minuten | | | | | | | | Einwirkungszeit in Stunden | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Einwirkungszeit in Minuten resp. Stunden | 10 | 20 | 25 | 30 | 40 | 50 | 60 | 90 | 2 | 3 | 4 |
| Lösung | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — |

| | Einwirkungszeit in Minuten | | | | | | | | Einwirkungszeit in Stunden | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Einwirkungszeit in Minuten resp. Stunden | 10 | 20 | 25 | 30 | 40 | 50 | 60 | 90 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Lösung | + | + | + | + | — | — | — | — | | | | |
| Seidenfäden | | | | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Granaten | | | + | + | + | — | — | — | — | | | |

| | Einwirkungszeit in Minuten | | | | | | | | Einwirkungszeit in Stunden | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Einwirkungszeit in Minuten resp. Stunden | 10 | 20 | 25 | 30 | 40 | 50 | 60 | 90 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Lösung | + | + | + | + | + | — | — | — | | | | |
| Seidenfäden | | | | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | | | + | + | — | — | — | — | — | | | |

## 2-proz. Bacillol-Wasser.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 5 | 6 | 8 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 80 | 90 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 5 | 6 | 7 | 8 | 10 | 12 | 15 | 18 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 80 | 90 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | — | — | — | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | | | | + | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | — | — | — | | | | | | |

| Einwirkungszeit in Minuten | 5 | 6 | 7 | 8 | 10 | 12 | 15 | 18 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 80 | 90 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | — | — | — | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | | | | + | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | + | — | — | — | — | — | | | | | | |

## 2-prom. Sublamin-Wasser.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 12 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | | | + | + | + | + | + | — | — | — | — | | |
| Seidenfäden | | | | | | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Granaten | | | + | + | + | + | + | — | — | — | — | | |

| Einwirkungszeit in Minuten | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 12 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | | | + | + | + | — | — | — | — | — | — | | |
| Seidenfäden | | | | | | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Granaten | | | + | + | + | + | — | — | — | — | — | | |

### Mittelzahlen:

2-proz. Lysoform-Wasser:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten | Abtötungszeit in Stunden |
|---|---|---|
| Lösung | 40 | |
| Seidenfäden | 130 | |
| Granaten | 47 | |

2-proz. Bacillol-Wasser:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 12 |
| Seidenfäden | 63 |
| Granaten | 10 |

2-prom. Sublamin-Wasser:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 7 |
| Seidenfäden | 8 |
| Granaten | 6 |

Tabelle XIII.

# Sporenfreie Milzbrandbacillen:

## 2-proz. Lysoform-Wasser.

| Einwirkungszeit in Min. | 1 | 3 | 5 | 6 | 8 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 18 | 20 | 25 | 30 | 40 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Granat. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Min. | 1 | 3 | 5 | 6 | 8 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 18 | 20 | 25 | 30 | 40 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | | | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | | | |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | | | |
| Granat. | | | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | | | |

| Einwirkungszeit in Min. | 1 | 3 | 5 | 6 | 8 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 18 | 20 | 25 | 30 | 40 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | | | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | | | |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — | | | |
| Granat. | | | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — | | | |

## 2-proz. Bacillol-Wasser.

| Einwirkungszeit in Min. resp. Std. | Einwirkungszeit in Minuten | | | | | | | | | | | | Einwirkungszeit in Stunden | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 3 | 5 | 8 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granat. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Std. | 1 | 3 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | — | — | | |
| Seidenf. | | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Granat. | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Std. | 1 | 3 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | — | — | — | | |
| Seidenf. | | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Granat. | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — |

## 2-prom. Sublamin-Wasser.

| Einwirkungszeit in Min. | ½ | 1 | 2 | 3 | 5 | 8 | 9 | 10 | 12 | 13 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Seidenf. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granat. | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Min. | ½ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 15 | 18 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | — | — | — | — | — | | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | | | | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Granat. | | | | | | | + | — | — | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Min. | ½ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 15 | 18 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | | | | | | | | |
| Seidenf. | | | | | | | + | + | + | + | + | — | — | — |
| Granat. | | | | | | | + | + | + | — | — | — | — | — |

## Mitelzahlen:

2-proz. Lysoform-Wasser:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 11 |
| Seidenfäden | 10 |
| Granaten | 12 |

2-proz. Bacillol-Wasser:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten | Abtötungszeit in Stunden |
|---|---|---|
| Lösung | | 6 |
| Seidenfäden | | 8 |
| Granaten | | 5 |

2-prom. Sublamin-Wasser:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Minuten |
|---|---|
| Lösung | 2 |
| Seidenfäden | 13 |
| Granaten | 10 |

Tabelle XIV.

# Milzbrandsporen:

## 2-proz. Lysoform-Wasser.

| Einwirkungszeit in Stunden | 1 | 3 | 5 | 8 | 10 | 12 | 13 | 14 | 15 | 18 | 20 | 24 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Seidenfäd. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Stunden | 5 | 8 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 18 | 20 | 24 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | |
| Seidenfäd. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Stunden | 5 | 8 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 18 | 20 | 24 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | |
| Seidenfäd. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |

## 2-proz. Bacillol-Wasser.

| Einwirkungszeit in Stunden resp. Tagen | Einwirkungszeit in Stunden: 1 | 3 | 5 | 10 | 15 | 18 | 20 | 24 | Einwirkungszeit in Tagen: 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Seidenfäd. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — [1] |

| Einwirkungszeit in Tagen | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Seidenfäd. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

| Einwirkungszeit in Tagen | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Seidenfäd. | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

## 2-prom. Sublamin-Wasser.

| Einwirkungszeit in Stunden | 1 | 3 | 5 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Seidenfäd. | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Stunden | 8 | 9 | 10 | 11 | 16 | 17 | 18 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | — | — |
| Seidenfäd. | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | — | — | — | — | — |

| Einwirkungszeit in Stunden | 8 | 9 | 10 | 11 | 16 | 17 | 18 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | — | — | — | — |
| Seidenfäd. | + | + | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | + | + | + | — | — | — | — | — |

## Mittelzahlen:

2-proz. Lysoform-Wasser:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Stunden |
|---|---|
| Lösung | 15 |
| Seidenfäden | 23 |
| Granaten | 17 |

2-proz. Bacillol-Wasser:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Tagen |
|---|---|
| Lösung | nicht nach 13 Tagen |
| Seidenfäden | nicht nach 13 Tagen |
| Granaten | nicht nach 13 Tagen |

2-prom. Sublamin-Wasser:

| Testobjekt | Abtötungszeit in Stunden |
|---|---|
| Lösung | 13 |
| Seidenfäden | 14 |
| Granaten | 11 |

1) Die kleinere Zahl gegenüber Versuch 2 und 3 ist wahrscheinlich auf einen Versuchsfehler zurückzuführen. Nachträglich angestellte Versuche haben ergeben, daß 2-proz. Bacillol-Wasser nicht imstande ist, an Seidenfäden und Granaten haftende Milzbrandsporen in 3 Wochen abzutöten. Die Ueberimpfung der Granate resp. des Seidenfadens aus der zu prüfenden Lösung auf Nährboden hatte stets auf letzterem ein ungehemmtes Wachstum zur Folge.

Die Versuche hatten demnach folgendes Ergebnis (Mittelzahlen):

Es wurden vernichtet durch:

| | 2-proz. Lysoform-Wasser: | 2-proz. Bacillol-Wasser: | 2-prom. Sublamin-Wasser. |
|---|---|---|---|
| a) Bac. typhi abdominalis: | | | |
| in Lösung | in 4 Min. | in 1/2 Min. | in 1/2 Min. |
| an Seidenfäden | „ 17 „ | „ 18 „ | „ 9 „ |
| an Granaten | „ 6 „ | „ 6 „ | „ 4 „ |
| b) Vibrio cholerae asiaticae: | | | |
| in Lösung | „ 2 „ | „ 1/2 „ | „ 1/2 „ |
| an Seidenfäden | „ 2 „ | „ 3 „ | „ 1/2 „ |
| an Granaten | „ 1/2 „ | „ 1/2 „ | „ 1/2 „ |
| c) Dysenteriebacillus: | | | |
| in Lösung | „ 4 „ | „ 1/2 „ | „ 1/2 „ |
| an Seidenfäden | „ 7 „ | „ 8 „ | „ 2 „ |
| an Granaten | „ 6 „ | „ 2 „ | „ 1 „ |
| d) Diphtheriebacillus: | | | |
| in Lösung | „ 2 „ | „ 1/2 „ | „ 1/2 „ |
| an Seidenfäden | „ 9 „ | „ 7 „ | „ 1 „ |
| an Granaten | „ 2 „ | „ 3 „ | „ 1/2 „ |
| e) Staphyl. pyog. aur.: | | | |
| in Lösung | „ 40 „ | „ 12 „ | „ 7 „ |
| an Seidenfäden | „ 130 „ | „ 63 „ | „ 8 „ |
| an Granaten | „ 47 „ | „ 10 „ | „ 6 „ |
| f) Sporenfreie Milzbrandbacillen: | | | |
| in Lösung | „ 11 „ | „ 6 Std. | „ 2 „ |
| an Seidenfäden | „ 10 „ | „ 8 „ | „ 13 „ |
| an Granaten | „ 12 „ | „ 5 „ | „ 10 „ |
| g) Milzbrandsporen: | | | |
| in Lösung | „ 15 Std. | „ ? } nicht nach 13 Tagen | „ 13 Std. |
| an Seidenfäden | „ 23 „ | „ ? | „ 14 „ |
| an Garanten | „ 17 „ | „ ? | „ 11 „ |

Auch unter den geprüften wässerigen Desinfektionslösungen steht die Sublaminlösung in ihrer Wirkung auf die obigen Textobjekte obenan. Weniger befriedigt die Lysoformwasserlösung, deren Einfluß auf Milzbrandbacillen und Sporen jedoch auch dieses Mal bei weitem den der entsprechenden Bacillollösung übersteigt.

Ebenso bestätigen sich alle oben näher besprochenen Einzelheiten bezüglich der verschiedenen Versuchsanordnungen wieder aufs eklatanteste. Einige Abweichungen sprechen dabei nicht gegen die Methode, hängen vielmehr wahrscheinlich von noch zum Teil unbekannten, vielleicht nicht oder nur schwer zu umgehenden Nebenumständen ab.

Stellen wir auch hier die Resultate etwas übersichtlicher zusammen, so ergibt sich aus den Versuchen folgendes Bild:

Es tötet ab:

| Die 2-prom. Sublamin-Wasser-Lösung: | in Lösung: | an Granaten: | an Seidenfäden: |
|---|---|---|---|
| Vibrio cholerae asiaticae | in 1/2 Min. | in 1/2 Min. | in 1/2 Min. |
| Diphtheriebacillus | „ 1/2 „ | „ 1/2 „ | „ 1 „ |
| Dysenteriebacillus | „ 1/2 „ | „ 1 „ | „ 2 „ |
| Typhusbacillus | „ 1/2 „ | „ 4 „ | „ 9 „ |
| Staphyl. pyog. aureus | „ 7 „ | „ 6 „ | „ 8 „ |
| Sporenfreie Milzbrandbacillen | „ 2 „ | „ 10 „ | „ 13 „ |
| Milzbrandsporen | „ 13 Std. | „ 11 Std. | „ 14 Std. |

| Die 2-proz. Bacillolwasserlösung: | in Lösung: | an Granaten: | an Seidenfäden: |
|---|---|---|---|
| Vibrio cholerae asiaticae | in 1/2 Min. | in 1/2 Min. | in 3 Min. |
| Diphtheriebacillus | „ 1/2 „ | „ 3 „ | „ 7 „ |
| Dysenteriebacillus | „ 1/2 „ | „ 2 „ | „ 8 „ |
| Typhusbacillus | „ 1/2 „ | „ 6 „ | „ 18 „ |
| Staphyl. pyog. aureus | „ 12 „ | „ 10 „ | „ 63 „ |
| Sporenfreie Milzbrandbacillen | „ 6 Std. | „ 5 Std. | „ 8 Std. |
| Milzbrandbacillen | nicht nach 13 Tagen | nicht nach 13 Tagen | nicht nach 13 Tagen |

## Tabelle XV.

Verdünnungsmethode:

| | Staph. pyog. aureus | Milzbrand-sporen |
|---|---|---|
| 2‰ Sublamin-Alkohol | 1/2 Min. | 7 Std. |
| 2‰ Sublamin-Wasser | 7 „ | 13 „ |
| 2% Bacillol-Alkohol | 1/2 Min. | in ca. 7 Tagen |
| 2% Bacillol-Wasser | 12 „ | nicht nach 3 Wochen |
| 2% Lysoform-Alkohol | 1/2 Min. | 15 Std. |
| 2% Lysoform-Wasser | 40 „ | 15 „ |

Modifizierte Granatenmethode:

| | Staph. pyog. aureus | Milzbrand-sporen |
|---|---|---|
| 2‰ Sublamin-Alkohol | 4 Min. | 10 Std. |
| 2‰ Sublamin-Wasser | 6 „ | 11 „ |
| 2% Bacillol-Alkohol | 6 Min. | nicht nach 10 Tagen |
| 2% Bacillol-Wasser | 10 „ | nicht nach 3 Wochen |
| 2% Lysoform-Alkohol | 7 Min. | 15 Std. |
| 2% Lysoform-Wasser | 47 „ | 17 „ |

Seidenfadenmethode:

| | Staph. pyog. aureus | Milzbrand-sporen |
|---|---|---|
| 2‰ Sublamin-Alkohol | 11 Min. | 11 Std. |
| 2‰ Sublamin-Wasser | 8 „ | 14 „ |
| 2% Bacillol-Alkohol | 16 Min. | nicht nach 10 Tagen |
| 2% Bacillol-Wasser | 63 „ | nicht nach 3 Wochen |
| 2% Lysoform-Alkohol | 14 Min. | 17 Std. |
| 2% Lysoform-Wasser | 130 „ | 23 „ |

Die 2-proz. Lysoform-Wasser-Lösung:

| | in Lösung: | an Granaten: | an Seidenfäden: |
|---|---|---|---|
| Vibrio cholerae asiaticae | in 2 Min. | in 1/2 Min. | in 2 Min. |
| Diphtheriebacillus | „ 2 „ | „ 2 „ | „ 9 „ |
| Dysenteriebacillus | „ 4 „ | „ 6 „ | „ 7 „ |
| Typhusbacillus | „ 4 „ | „ 6 „ | „ 17 „ |
| Staphyl. pyog. aureus | „ 40 „ | „ 47 „ | „ 130 „ |
| Sporenfreie Milchbrandbacillen | „ 11 „ | „ 12 „ | „ 10 „ |
| Milzbrandsporen | „ 15 Std. | „ 17 Std. | „ 23 Std. |

Werfen wir vergleichend einen Blick zurück auf die Wirkungsweise der alkoholisch gelösten Desinficientien, so ist zu konstatieren, daß die alkoholischen Flüssigkeiten fast überall eine etwas stärkere bakterizide Wirkung ausgeübt haben als die wäßrigen. Tritt dieser Unterschied bei den wenig widerstandsfähigen Bakterien auch nicht so klar hervor, so macht sich gegenüber den resistenten und resistentesten Formen, wie solche der Staphyl. pyog. aureus und vor allem die Milzbrandsporen darstellen, dieser Einfluß deutlich zu Gunsten der alkoholischen Desinfektionslösungen geltend.

Der Uebersichtlichkeit halber stelle ich die Resultate dieser beiden Versuchsreihen nochmals kurz tabellarisch zusammen, beschränke mich dabei jedoch nur auf die keimtötende Wirkung der 2-prom. Sublamin- resp. der 2-proz. Bacillol- und Lysoformlösungen, der alkoholischen sowohl als der wäßrigen, gegenüber dem Staphyl. pyog. aur. und den Milzbrandsporen, einmal weil hier die Differenz eine am meisten auffallende ist, andererseits diese beide Bakterienformen praktisch das größte Interesse beanspruchen.

Mit Vorstehendem glaube ich den Beweis geliefert zu haben, daß die geprüften Desinficientien im allgemeinen in alkoholischer Lösung (ca. 99-proz. Alkokol) einen etwas höheren Desinfektionswert auch gegenüber Bakterienkulturen besitzen als die entsprechenden wäßrigen Fluida.

Bei näherer Besichtigung der letzten Tabelle (15) fällt nur ein Resultat auf, das mit dem der Händedesinfektionsversuche und den sonst hier soeben mitgeteilten Resultaten in entschiedenem Widerspruche steht; ich meine die kräftigere Wirkung des Sublamin-Wassers auf an Seidenfäden angetrocknete Staphylokokken gegenüber der Einwirkung des Sublaminalkohols auf die Eitererreger. Es kontrastiert dieses Ergebnis auch mit dem Desinfektionseffekt derselben wäßrigen Sublaminlösung auf an Granaten haftende Staphylokokken und auf in Lösung befindliche.

Um Versuchsfehler auszuschließen, ließen wir die 2-prom. Sublaminalkohol- und Wasserlösungen nochmals auf die Seidenfadenstaphylokokken einwirken.

Der Versuch zeitigte folgendes Ergebnis:

Tabelle XVI. Staphylococcus pyogenes aureus.

2-prom. Sublamin-Wasser:
Versuch 1.

| Einwirkungszeit in Minuten | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Seidenfäden | + | + | + | — | + | — | + | + |

2-prom. Sublamin-Alkohol:

| Einwirkungszeit in Minuten | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Seidenfäden | + | + | — | — | — | — | — |

Versuch 2.

2-prom. Sublamin-Alkohol:

| Einwirkungszeit in Minuten | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 18 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | + | + | — |

2prom. Sublamin-Wasser:

| Einwirkungszeit in Minuten | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Seidenfäden | + | — | — | — | — | — | — |

Auch dieses Mal waren die meisten Bouillonröhrchen der Sublamin-Alkoholreihe bereits nach 24 Stunden trübe, während bei den Sublamin-Wasserversuchen am ersten Tage in den Röhrchen, in denen überhaupt Wachstum eingetreten war, höchstens eine Opalescenz zu beobachten war. Der Sublamin-Alkohol hatte sehr viel später die Staphylokokken abgetötet als das Sublamin-Wasser. Wir fanden demnach unsere obigen Resultate wiederum bestätigt.

Da ich bezüglich des Sublamin-Alkohols im Versuch 1 nicht zum vollkommenen Resultat gelangt war, wurde der Versuch nach einigen Tagen abermals angestellt, und zwar mit ganz ähnlichem Erfolge wie in Versuch 1.

Eine Erklärung für dieses immerhin auffallende und unter sämtlichen Versuchsreihen vereinzelt dastehende Resultat zu finden, war uns bisher leider nicht möglich. Ob die Verdrängung der Luft innerhalb des Seidenfadens durch den Alkohol eine langsamere ist, als beim Wasser, erscheint zweifelhaft; sichtbar war etwas Derartiges nicht. Auch müßte dann bei den übrigen Bakterienarten sich etwas Aehnliches gezeigt haben.

Es bleibt wohl nur übrig, anzunehmen, daß gerade bei den an sich schon in größeren Verbänden liegenden Staphylokokken der Alkohol innerhalb des Seidenfadens Konglomerate, Koagulationen erzeugt, in deren Inneres das Desinfektionsmittel dann weniger leicht einzudringen vermag. Unverständlich wäre dann aber, daß sich bei den mit Lysoform-Wasser und -Alkohol, bezw. mit Bacillol-Wasser und -Alkohol behandelten Staphylokokken-Seidenfäden nicht auch ein Ueberwiegen in der Wirkung der wäßrigen Lösung gezeigt hat.

Weiterhin soll an dieser Stelle besonders erwähnt werden, daß in fast sämtlichen Versuchsreihen die vegetativen Formen des Milzbranderregers sich allen drei Desinfektionslösungen gegenüber resistenter erwiesen hatten als der Typhusbacillus. Da jedoch die Widerstandsfähigkeit des Typhusbacillus nach Literaturangaben für gewöhnlich eine größere sein soll, als sie dem sporenfreien Milzbrandstäbchen in der Regel zukommt, so wurden auch diese Versuche wiederholt und zwar dieses Mal mit folgendem Ergebnis (s. Tab. XVII).

Der sporenfreie Milzbrandbacillus wird demnach abgetötet durch:

| | in Lösung | an Granaten | an Seidenfäden |
|---|---|---|---|
| 2-prom. Sublamin-Alkohol | in 1/2 Minute | in 8 Minuten | in 9 Minuten |
| 2-proz. Lysoform-Alkohol | „ 7 Minuten | „ 8 „ | „ 13 „ |
| 2-proz. Bacillol-Alkohol | „ 1 1/2 Stunden | „ 2 Stunden | „ 2 1/2 Stunden |
| 2-prom. Sublamin-Wasser | „ 2 Minuten | „ 9 Minuten | „ 14 Minuten |
| 2-proz. Lysoform-Wasser | „ 14 „ | „ 14 „ | „ 15 „ |
| 2-proz. Bacillol-Wasser | „ 5 Stunden | „ 4 Stunden | „ 7 Stunden |

Bezüglich des 2-promill. Sublamin-Alkohols stimmt das Resultat genau mit den in Tabelle 6 gefundenen Mittelzahlen überein. An einzelnen Stellen war die bakterientötende Wirkung noch etwas langsamer eingetreten als früher; im ganzen und großen wurden jedoch dieselben Resultate wieder erzielt.

Tabelle XVII. Sporenfreie Milzbrandbacillen:

2-proz. Lysoform-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 18 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | — | — | — | | | | | | | |

2-proz. Bacillol-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Stunden | 1 | 1½ | 2 | 2½ | 3 |
|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | — | — | — | — |
| Seidenfäden | + | + | + | — | — |
| Granaten | + | + | — | — | — |

2-prom. Sublamin-Alkohol.

| Einwirkungszeit in Minuten | ½ | 1 | 2 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | — | — | — | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | + | — | — | — | — |
| Granaten | | | | + | + | — | — | — | | |

2-proz. Lysoform-Wasser.

| Einwirkungszeit in Minuten | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | + | + | + | + | — | — |
| Seidenfäden | + | | + | + | + | + | + | — |
| Granaten | | | + | + | + | + | — | — |

2-proz. Bacillol-Wasser.

| Einwirkungszeit in Stunden | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | + | — | — | — | — | | |
| Seidenfäden | | | | + | — | — | — | — |
| Granaten | + | — | — | — | — | — | | |

2-prom. Sublamin-Wasser.

| Einwirkungszeit in Minuten | 1 | 2 | 3 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lösung | + | — | — | | | | | | | | |
| Seidenfäden | | | | | | + | + | + | + | — | — |
| Granaten | | | | + | — | — | — | — | — | | |

Es fragt sich nun, wie können wir uns diese verzögerte Wirkung der geprüften alkoholischen und wässerigen Desinfektionslösungen auf die sporenfreien Milzbrandbacillen erklären? Ich muß hier zurückgreifen auf die Art und Weise, wie ich die Milzbrandbacillen wirklich sporenfrei gewann. Zunächst wurde einer Maus in eine Hauttasche oberhalb der Schwanzwurzel ein Milzbrandsporen-Seidenfaden implantiert, die entstandene Wundöffnung sodann mit Kollodium geschlossen und so eine Nebeninfektion verhütet. Die Maus starb gewöhnlich 24—36 Stunden nach der Impfung. Nach Eröffnung der Maus wurde die Milz mit sterilen Instrumenten herausgenommen und, nachdem von einem abgeschnittenen kleinen Stückchen derselben ein Ausstrichpräparat gemacht und in demselben die Stäbchen nachgewiesen waren, in einem sterilen Mörser mit wenig Bouillon zerkleinert, allmählich mehr Bouillon, im ganzen ca. 15 ccm, zugesetzt und die entstandene Emulsion in ein Reagenzglas gegossen. Die noch sichtbaren Bröckel setzten sich schnell am Boden ab; von der obersten Schicht, die eine geringe Trübung noch zeigte, wurde sodann zum Versuch genommen.

Gehen wir jetzt zu der uns beschäftigenden Frage nach der Ursache der verlangsamten bakteriziden Wirkung unserer Desinfektionslösungen auf sporenfreie Milzbrandbacillen zurück, so werden wir zu der Annahme gezwungen, daß ein Teil des Sublamins beim Kontakt mit der flüssigen oder an Seidenfäden oder Granaten angetrockneten Milzaufschwemmung durch die organischen Substanzen der letzteren gebunden wird, und zwar so frühzeitig, daß dieser fragliche Anteil des Sublamins auf die Milzbrandbacillen noch nicht seine deletäre Wirkung hatte ausüben können. Auch Koagulationsvorgänge dürften hierbei wohl mit in Betracht kommen.

Andere Ursachen konnten wir nicht eruieren.

Schließlich sei hier noch ein von mir angestellter Versuch erwähnt, bei dem ich 2-promill. Sublamin-Alkohol und 2-promill. Sublamin-Wasser auf Milzbrandsporen-Fäden und -Granaten einwirken ließ, die den Fäden und Granaten noch anhaftenden kleinen Desinfektionsflüssigkeitsmengen genau nach Krönig und Pauls Vorgange (l. c.), bevor sie in die Nährflüssigkeit übermittelt wurden, in sterilem Wasser abspülte, die Testobjekte dann für 12 Minuten in 3-proz. Schwefelammoniumlösung, von da ebenfalls 12 Minuten in steriles Wasser brachte. Erst hierauf folgte die Weiterbehandlung wie oben.

Bislang hatte ich nämlich keine Fällungsmittel angewandt, einmal weil die Gefahr der Nebeninfektion dabei eine sehr große ist, dann auch, weil die Testobjekte jedesmal nach der Behandlung in ca. 10 ccm Nährflüssigkeit gelegt wurden, so daß der mitübertragene Anteil Desinficiens so enorm verdünnt wurde, daß eine abtötende und auch eine entwickelungshemmende Wirkung auf die Testobjekte ganz ausgeschlossen war. Von der Richtigkeit meiner Ansicht nun haben mich die folgenden Versuche überzeugt.

Tabelle XVIII.

Milzbrandsporen.

2-prom. Sublamin-Alkohol (Fällung durch Schwefelammonium).

| Einwirkungszeit in Stunden | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Seidenfäden | + | + | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | + | — | — | — | — |

2-prom. Sublamin-Wasser (Fällung durch Schwefelammonium).

| Einwirkungszeit in Stunden | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Seidenfäden | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — | — |
| Granaten | + | + | + | + | + | + | — | | | | |

Der Unterschied im Resultate zwischen diesem vorstehenden Versuche und den entsprechenden früheren ist gering und liegt sicher noch innerhalb der Fehlergrenze. Daraus geht mit Sicherheit hervor, daß auch meinen obigen, in den Tabellen 1—14 mitgeteilten Versuchen Beweiskraft zukommt.

Die Versuche haben bewiesen, daß sämtliche von mir benutzten Kulturen zum Teil recht kräftiges Wachstum in der mit einer Spur Desinficiens getränkten Bouillon zeigten und daß nach der Unschädlichmachung des Desinficiens (in unserem Falle Fällung des Sublamins durch Schwefelammonium) die Resultate sich kaum merklich verschoben haben. Es kann demnach die mitübertragene Menge des Desinficiens nicht entwickelungshemmend auf das Testobjekt gewirkt haben.

Zwecks weiterer Beantwortung dieser Frage wurde folgender Versuch gemacht:

Eine Anzahl Bouillonröhrchen wurde mit Seidenfäden geimpft, welch letztere zum Teil mit Sublamin-Alkohol, zum Teil mit Sublamin-Wasser getränkt waren (Einlegen der Fäden in die Flüssigkeit bis zum Untertauchen). In ein jedes dieser Röhrchen wurde eine ganz kleine Oese einer im Verhältnis von 1 : 5 verdünnten Bouillonkultur je eines der 7 zu meinen obigen Versuchen benutzten Testobjekte übertragen, so zwar, daß 7 Röhrchen mit Sublamin-Alkohol-Fäden mit je einer Kultur geimpft wurden und ebenso 7 Röhrchen mit Sublamin-Wasser-Fäden mit den gleichen Kulturmengen derselben Bakterienarten. Zur Kontrolle wurden dieselben Testobjekte in gleicher Konzentration in nicht mit einem Seidenfaden vorher beschickte Bouillon übergeimpft. Schließlich wurde je eine Oese der genannten verdünnten Bouillonkulturen zur Agarplatte verarbeitet, um festzustellen, wieviel Keime ungefähr mit der Platinöse in die Nährbouillon gekommen waren.

Die Platten wurden nach 2 × 24 Stunden ausgezählt und zwar mit folgendem Resultat:

| | | |
|---|---|---|
| Choleraplatte | 76 | Kolonieen |
| Diphtherieplatte | 110 | „ |
| Typhusplatte | 126 | „ |
| Dysenterieplatte | 126 | „ |
| Staphylokokkenplatte | 98 | „ |
| Sporenfreie Milzbrandbacillenplatte | 144 | „ |
| Milzbrandsporenplatte | 182 | „ |

Ich durfte annehmen, daß, wenn auch nicht dieselbe, so doch eine ungefähr gleiche Anzahl Keime mit der Platinöse in je eins der 21 beimpften Bouillonröhrchen übermittelt war.

Der Impferfolg war folgender:

Nach 24 Stunden, während welcher die Kulturen bei 37° C im Brütschranke gestanden hatten, waren in sämtlichen Kontrollröhrchen üppige Kulturen entstanden, charakteristisch je nach der Art des Wachstums der einzelnen Bakterien. Auch in sämtlichen mit Fäden versehenen Röhrchen war deutliches Wachstum eingetreten, jedoch schien

dasselbe um ein geringes schwächer zu sein als in den Kontrollröhrchen. Nach 48-stündigem Verweilen bei Brüttemperatur war jedoch dieser Unterschied nicht mehr wahrzunehmen, da überall kräftige Kulturen konstatiert wurden. Eine Differenz bezüglich der Wachstumsenergie konnte zwischen den mit Sublamin-Alkohol- und den mit Sublamin-Wasser-Fäden versetzten Bouillonkulturen hierbei nicht festgestellt werden.

Es kann daher aus diesen Versuchen gefolgert werden, daß die mit den Seidenfäden — natürlich gilt dies auch für die früheren Versuchsreihen — auf den Nährboden übertragene Menge Desinficiens nur für kurze Zeit das Wachstum der verwendeten Bakterienarten verzögert. Aus diesem Grunde halte ich bei der Art meiner Versuchsanordnung die sämtlichen in den Tabellen 1—14 mitgeteilten Ergebnisse für richtig oder wenigstens nicht durch Entwickelungshemmung beeinflußt, und zwar auch die mit Lysoform und Bacillol erhaltenen.

---

An der Hand der obigen, nunmehr vollständig mitgeteilten und als vollgültig erkannten Versuchsergebnisse wird es möglich sein, die beiden im Eingange dieser Arbeit gestellten Fragen zu beantworten: Ist die in den Händedesinfektionsversuchen vorhandene Ueberlegenheit der alkoholischen Lösungen der drei benutzten Chemikalien gegenüber den wässerigen Lösungen derselben Mittel auch bei Versuchen mit Bakterien**kulturen** vorhanden? Im Bejahungsfalle: genügt diese in den Kulturversuchen erwiesene Ueberlegenheit der alkoholischen Lösungen, um die weit stärkere Wirkung derselben gegenüber wässerigen Solutionen in meinen Händedesinfektionsversuchen zu erklären?

Die erste Frage dürfte in der Tat mit ja zu beantworten sein. In jedem Einzelfalle hat sich (mit der oben besprochenen einen Ausnahme: Staphylokokken an Seidenfäden) die alkoholische Lösung als etwas kräftiger wirksam erwiesen als die wässerige; in manchen Fällen ist der Unterschied zu Gunsten der alkoholischen Solutionen sogar als recht bedeutend zu bezeichnen. Die eine Ausnahme glaube ich um so eher vernachlässigen zu dürfen, als sie sich bei der oben schon als minderwertig gekennzeichneten Seidenfadenmethode eingestellt hat; und als der Parallelversuch an Granaten in genügender Klarheit die kräftigere Wirkung des Sublimat-Alkohols zeigt. Ich glaube auch heute noch, daß diese Ueberlegenheit des Desinficiens in alkoholischer Lösung, wie sie nun auch für Kulturversuche festgestellt ist, zurückzuführen ist auf die Tatsache, daß das Sublamin und die anderen Chemikalien sich im Alkohol noch eben in Lösung, d. h. im Zustande der „Schwebefällung“ befinden und verweise in dieser Beziehung auf dasjenige, was ich in meiner Arbeit über die Wirkung des Sublaminalkohols bei der Händedesinfektion im Arch. f. Hyg. Bd. XLV. p. 395/96 gesagt habe. Eine Summierung in der Wirkung der zwei Desinficientien, des Alkohols und des Sublamins, ist zwar nicht ganz von der Hand zu weisen, doch erscheint es mir sehr unwahrscheinlich, daß neben der starken Wirkung des Sublamins dem schwach desinfizierenden absoluten Alkohol eine Erhöhung der Wirkung möglich sein sollte.

Die zweite, eben noch einmal präzisierte Frage dürfte dagegen nicht mit ja zu beantworten sein. Ich glaube nicht, daß die in den Kulturversuchen erwiesene Ueberlegenheit der alkoholischen Solutionen genügt, um die enorme Differenz der Ergebnisse zu erklären, welche in

meinen Händedesinfektionsversuchen zwischen der Wirkung alkoholischer und wässeriger Lösungen zu Tage getreten ist. Wenn man sich das hier Ausschlaggebende noch einmal vergegenwärtigen will, empfiehlt es sich, die Zeiten der Abtötung der Staphylokokken und der Milzbrandsporen in den allein maßgebenden Granatenversuchen durch alkoholische Sublamin- etc. Lösung einerseits, durch die wässerigen Lösungen andererseits noch einmal nebeneinander zu stellen, wie das in der hier folgenden Tabelle 19 geschehen ist. Die Differenz zu Gunsten des Alkohols

Tabelle XIX.

| | Abtötungszeit (an Granaten) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Sublamin-Alkohol | Sublamin-Wasser | Bacillol-Alkohol | Bacillol-Wasser | Lysoform-Alkohol | Lysoform-Wasser |
| Staphylokokken | 4 Minuten | 6 Minuten | 6 Minuten | 10 Minuten | 7 Minuten | 47 Minuten |
| Milzbrandsporen | 10 Stunden | 11 Stunden | nicht nach 10 Tagen | nicht nach 3 Wochen | 15 Stunden | 17 Stunden |

ist so gering, wenigstens beim Sublamin, daß man sie fast vernachlässigen könnte. Diese Differenz ist nicht im stande, zu erklären, wie es möglich ist, daß man bei der Händedesinfektion mit Sublaminalkohol 92,3-proz., mit Sublamin-Wasser 43,1-proz. sterile Platten erhält. Folglich kann auch nicht, wie von mir am Schlusse meiner Sublaminarbeit versucht worden ist, die oben erwähnte Schwebefällung allein als Erklärung für den günstigen Ausfall meiner Händedesinfektionsversuche mit alkoholischen Lösungen dienen. Es muß noch einen oder mehrere andere mitwirksame Faktoren geben.

Diese mitwirkenden Faktoren sehe ich in folgendem: 1) kommt wahrscheinlich die von Braatz[1]) erwähnte Fähigkeit des Alkohols, die Luft aus den Poren der Haut und den Ausführungsgängen der verschiedenen Hautdrüsen zu entfernen, wesentlich mit in Frage. 2) wird die fettlösende Eigenschaft des Alkohols für die Steigerung der Wirkung der in ihm gelösten Desinficientien nicht ohne Bedeutung sein können. Und diese Eigenschaft gerade ist es vielleicht, die uns auch den Schlüssel gibt für den Unterschied der Desinfektionswirkung bei unserer Versuchsanordnung und bei der Fürbringerschen Methode. Wenn der Alkohol das Desinfektionsmittel direkt heranführt an die durch ihn selbst von schützenden Fetthüllen befreiten Bakterien, so muß der Desinfektionseffekt größer sein, als wenn nach Verdunstung oder Wiederentfernung des Alkohols die wässerige Desinfektionsflüssigkeit auf Bakterien trifft, die sich bereits wieder mit einer, wenn auch vielleicht dünneren, Fettschicht umkleidet haben.

Steigerung der Desinfektionswirkung durch Schwebefällung, fettlösende und luftverdrängende Eigenschaften des Alkohols, Heranbringen des Desinfektionsmittels an von Fett nach Möglichkeit befreite Bakterien, diese Punkte scheinen mir von wesentlichster Bedeutung für die Erklärung meiner guten Hautdesinfektionsresultate zu sein. Trifft das zu, so wird man gut tun, bei Händedesinfektionen in Zukunft weder den Alkohol allein noch in Verbindung mit einem in Wasser gelösten Desinfektionsmittel nach Fürbringerscher Vorschrift zu verwenden. Das Desinficiens in alkoholischer Lösung muß die besten Resultate ergeben.

1) Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 29.

*Nachdruck verboten.*

# Das Aetzsublimat und das Formaldehyd in der Desinfektionspraxis.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des von Prof. Dr F. Abba geleiteten städtischen Gesundheitsamtes in Turin.]

Von Dr. **F. Abba** und Dr. **A. Rondelli.**

IV. Mitteilung.

Mit 4 Figuren.

## I. Das Aetzsublimat.

Nachdem Dr. D. Ottolenghi auf dem im Jahre 1898 in Turin abgehaltenen Kongreß der italienischen Hygieniker [1]) auf Grund von eigenen Versuchen erklärt hatte, daß 3-prom. Aetzsublimatlösungen, auch wenn mit Salzsäure versetzt, die in den Sputa enthaltenen Tuberkelbacillen nicht zu töten vermögen, wurde beschlossen, zu den vom hiesigen städtischen bakteriologischen Laboratorium veranstalteten öffentlichen Desinfektionen, sowohl bei Fußböden als bei Wänden, statt 3-prom., 5-prom. Sublimatlösungen zu verwenden. Den Salzsäurezusatz (2,50 $^0/_{00}$) ließ man dabei unverändert, teils weil von Ottolenghi und anderen in Zweifel gezogen wurde, daß durch denselben die Desinfektionskraft des Sublimats gesteigert werde, teils, und zwar hauptsächlich, weil ein übermäßiger Salzsäurezusatz (5-prom.) den Uebelstand hat, daß er einige Farben der Tapeten angreift.

Für das Sublimat wählten wir eine 5-prom. Lösung infolge des Ausgangs des nachstehend beschriebenen Vorversuches.

Streifchen dünnen sterilen Löschpapiers wurden mit in sterilisiertem Wasser suspendierten Staphylokokken (Staph. pyog. aureus), Diphtheriebacillen, Milzbrandsporen (Materialien, die sich alle als virulent erwiesen hatten) und Sporen des Kartoffelbacillus (B. m. vulgatus) imprägniert. Nach 24-stünd. Eintrocknung bei 37 $^0$ C brachten wir die Löschpapierstreifchen in eine 5-prom. Sublimatlösung enthaltende Gläschen und ließen sie hier einige Minuten; hierauf spülten wir dieselben wiederholt in lauem (ca. 35 $^0$ C) sterilisierten Wasser ab und brachten sie in mit Bouillon gefüllte Röhrchen. Das Sublimat neutralisierten wir nicht mit Schwefelammonium (Geppert), weil, wie Abba und Baroni [2]) nachgewiesen haben, dessen Anwesenheit in den Kulturen das Wachstum der Keime verhindern kann. Uebrigens ist zu erwähnen, daß sich von den zur Kontrolle dienenden, in die steril gebliebenen Kulturen eingeführten Löschpapierstreifchen Keime entwickelten, was dartut, daß von den ersten Streifchen keine Spuren von Sublimat in den Kulturen zurückgeblieben waren.

Die 10 Tage lang bei 37 $^0$ C gehaltenen Kulturen gaben die in nachstehender Tabelle verzeichneten Resultate.

Aus diesem Experiment geht hervor, daß bei Anwendung einer 5-prom. Sublimatlösung ein Kontakt von mindestens 5 Minuten erforderlich ist, um Milzbrandsporen zu töten, während zur Tötung des

---

1) s. die Sitzungsberichte desselben. p. 253.

2) Abba e Baroni, Sulla preparazione del materiale asettico da medicazione. (Giornale medico del R. Esercito. 1899.)

Tabelle I.

| Bakterien | Ausgang des Experiments nach 1—15 Min. langem Verbleiben der Bakterien in 5-prom. Sublimatlösung | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Nach 1 | 3 | 5 | 10 | 15 Minuten |
| Staph. pyog. aureus | + | — | — | — | — |
| Diphtheriebacillus | — | — | — | — | — |
| Milzbrandsporen | + | + | — | — | — |
| Sporen des Kartoffelbacillus | + | + | + | + | — |

+ bedeutet, daß Wachstum stattfand, — bedeutet, daß die Kulturen wegen erfolgter Tötung der Bakterien steril blieben.

Staph. pyog. aureus 3 und zur Tötung des Diphtheriebacillus 1 Minute genügen.

Zur Tötung der Sporen des Kartoffelbacillus, die bekanntlich den Desinfizientien im allgemeinen am längsten widerstehen, bedurfte es eines 15 Minuten langen Kontakts[1]).

Natürlich handelte es sich bei diesem Experiment um Bakterien, die von keiner fremden Substanz umhüllt waren, da sie aus Reinkulturen herstammten und in sterilisiertem, destilliertem Wasser suspendiert waren; in der Folge jedoch nahmen wir, um uns so viel wie möglich der Praxis zu nähern, nachstehende Experimente an verschiedenartigen Wänden und Fußböden vor.

a) Wände.

Mittelst einer geeigneten Pumpe (Igea) berieselten wir mit einer sauren 5-prom. Aetzsublimatlösung verschiedenartig beschaffene Wandflächen, wie sie in der Praxis angetroffen werden können, nämlich:

1) eine mit Oelfirnis angestrichene Wand,
2) eine mit Kalkmilch getünchte Wand,
3) eine mit Tapeten bekleidete Wand.

Ferner besprengten wir einen mit Oelfarbe angestrichenen Fensterladen an zwei Stellen, nämlich an dem glatten Mittelstück und an der gewöhnlich mit wahrnehmbarem Staub bedeckten Einfassung.

Die besprengten Flächen schützten wir mit Tyndallschen Glocken, an deren Rändern wir sterilisierte Watte anbrachten und ließen sie so 24 Stunden lang.

Nach Ablauf dieser Zeit waren die besprengten Flächen vollkommen trocken, wir rieben nun mit dem Zenonischen Reibestöckchen[2]), das wir sehr praktisch fanden, an zahlreichen Stellen und legten mit dem gesammelten Material Bouillonkulturen an.

Die Kulturen hielten wir im Brütschrank bei 37° C und nach

1) Bei diesem Experiment waren die Resultate ungünstigere als sie es bei Einwirkung von Sublimat in Wirklichkeit sind. Im hiesigen Laboratorium hat Dr. Bormans andere Experimente über das Sterilisierungsvermögen des Aetzsublimats ausgeführt (Contributo allo studio delle desinfezioni con preparati di mercurio, in Rivista d'igiene. 1901), wobei er jedoch nicht Löschpapierstreifchen, sondern die bekannten Simonettaschen Glasfäden (Rivista d'igiene. 1898) anwendete. Nunwohl, mit einer 1-prom. Sublimatlösung vermochte er den Staph. pyog. fast immer in weniger als 2 Minuten und Milzbrandsporen fast immer in weniger als 3 Minuten zu töten, was die Vorzüge dieser Methode darthut, bei welcher dem Desinfiziens eine gleichmäßig glatte Oberfläche dargeboten wird, im Gegensatz zur primitiven Kochschen Methode (Seide, Papier u. s. w.), die dem Desinfiziens ein an Einbiegungen reiches Material darbietet, in welche Einbiegungen das Desinfiziens, während der kurzen Zeit seiner Einwirkung bisweilen nicht mit der notwendigen Schnelligkeit und Gleichförmigkeit zu dringen vermag.

2) Giornale della R. Società d'igiene. 1899.

10 Tagen stellten wir den Ausgang fest, der sich in nachstehender Tabelle wiedergegeben findet:

Tabelle II.

| Mit 5-prom. Sublimatlösung besprengte Flächen | Ausgang des Fxperiments |
|---|---|
| gefirnißte Wand | + + + + + — — — — |
| getünchte Wand | + + + + + + — — |
| tapezierte Wand | + + + + + + + — |
| Fensterladen: Mittelstück | + + + + + + + + — — — — |
| Fensterladen: Einfassung | + + + + + + — — |

Dieses Experiment tut als begründet dar, was wir in unseren früheren Mitteilungen wiederholt ausgesprochen haben: daß sich nämlich nicht ohne weiteres auf die Praxis anwenden läßt, was man bei Laboratoriumsversuchen erhält; man braucht nur diese Tabelle mit der vorhergehenden zu vergleichen, um sich davon zu überzeugen.

Zweitens geht aus demselben hervor, daß eine 5-prom. sauere Aetzsublimatlösung zur sicheren Desinfektion von, wenn auch verhältnismäßig reinen, Wänden nicht ausreicht, trotzdem diese Lösung, wie aus Tabelle I hervorgeht, den Desinfizientien widerstehende Bakterienformen rasch zu vernichten vermag.

Wir wiederholen deshalb das gleiche Experiment mit einer 8-prom. Sublimatlösung. Hier nachstehend der Ausgang dieses Experiments:

Tabelle III.

| Mit 8-prom. Sublimatlösung besprengte Flächen | Ausgang des Experiments |
|---|---|
| gefirnißte Wand | — — — — — — — — |
| getünchte Wand | + + + + — — — — |
| tapezierte Wand | — — — — — — — — |
| Fensterladen: Mittelstück | — — — — — — — — |
| Fensterladen: Einfassung | + + + + + + — — |

Da sich auch die 8-prom. Sublimatlösung als ungenügend erwies zur Desinfektion aller Stellen der nicht sehr glatten oder geneigten und also staubreicheren Flächen, wie es eben getünchte Wände und die Einfassungen von Fensterläden, Gemälden u. s. w. sind, wiederholten wir das gleiche Experiment zum zweitenmal mit einer 10-prom. Sublimatlösung. Hier nachstehend der Ausgang desselben:

Tabelle IV.

| Mit 10-prom. Sublimatlösung besprengte Flächen | Ausgang des Experiments |
|---|---|
| gefirnißte Wand | + — — — — — — |
| getünchte Wand | — — — — — — — |
| tapezierte Wand | — — — — — — — |
| Fensterladen: Mittelstück | — — — — — — — |
| Fensterladen: Einfassung | — — — — — — — |

Zufrieden mit diesem Resultat, unterwarfen wir, bevor wir die 10-prom. Sublimatlösung zur Desinfektion von Räumen definitiv in die Praxis einführten, mehr als 50 Tapetenproben einer Besprengung mit solcher, um festzustellen, ob die stattgehabte Desinfektion etwa Spuren auf den Tapeten zurückließe.

Zu diesem Experiment wählten wir Tapeten von verschiedenem

Preise — von dem billigsten bis zum teuersten — und von den verschiedensten Farben und konstatierten, daß — ausgenommen einige mit ganz erbärmlichen erdigen Farbstoffen (namentlich roten) gemalte Blumenverzierungen — keine Tapete Spuren von der auf sie gesprengten Desinfektionslösung aufwies. Auf Tapeten, die mittelst Bronze hergestellte Vergoldungen tragen, nehmen diese eine hellgraue Farbe an, die jedoch, da sie eine gleichförmige ist, die Wirkung der Zeichnung nicht im geringsten beeinträchtigt.

### b) Fußböden.

Gleichzeitig nahmen wir an einigen Arten von Fußböden Desinfektionen vor. Zu diesem Zwecke gossen wir die Sublimatlösung auf den Fußboden, rieben ihn stark mit einem T-förmigen Ericabesen, entfernten die Lösung und gossen eine andere darauf, rieben ihn wieder und bedeckten ihn, nachdem wir auch diese Lösung weggefegt hatten, mit Tyndallschen Glocken. Diese wurden auf einer Seite etwas erhoben, um die Trocknung zu begünstigen, jedoch ringsherum mit sterilisierter Watte geschützt.

Das Material zu den Kulturen sammelten wir auch in diesem Falle nach der Zenonischen Methode.

Zum ersten Versuch verwendeten wir eine 5-prom. sauere Sublimatlösung; der Ausgang war folgender:

Tabelle V.

| Mit 5-prom. Sublimatlösung besprengte Fußböden | Ausgang des Experiments |
|---|---|
| Marseiller Fliesen: Centrum derselben | — — — — |
| „ „ : Fugen | + + + + |
| Abgenutzte Ziegel aus Tonerde: Centrum derselben | + — — — |
| „ „ „ „ : Fugen | + + — — |
| Rohes Holz: Centrum der Dielen | + — — — |
| „ „ : Fugen | + — — — |
| Lackiertes Holz: Centrum der Dielen | + — — — |
| „ „ : Fugen | + + — — |
| Asphalt | + + + + + + + + |

Vergleicht man diese Tabelle mit jener, welche sich auf den mit 5-prom. Lösung an den Wänden ausgeführten Desinfektionsversuch bezieht (Tabelle II), so sieht man, daß man bei Fußböden, obgleich sie gewöhnlich schmutziger als Wände sind, bessere Resultate erhält, und dies, weil 1) bei Reiben mit dem Besen die Desinfektionslösung besser in alle vom Fußboden aufgewiesenen Ritzen und Krümmungen eindringen kann; 2) weil auf den Fußboden immer eine größere Menge von der Desinfektionslösung gegossen wird; 3) weil diese auf einer horizontalen Fläche länger als auf einer vertikalen oder geneigten zu verbleiben vermag.

Aus Tabelle V ist ferner ersichtlich, daß der Asphaltboden einer Desinfektion am wenigsten zugänglich ist, und der Grund davon liegt darin, daß er (wenn es sich nicht gerade um glatten Asphalt handelt) keine wirklich glatte Fläche (wie der Cement, die Fliesen, gefirnißtes Holz u. s. w.) bietet, sondern eine an kleinen Poren sehr reiche Fläche, in welche Poren, wegen der Anwesenheit von Erde oder auch einfach von Luftblasen, die Desinfektionslösung schwerlich dringt.

Nach diesem Desinfektionsversuch nahmen wir einen anderen, und zwar ohne weiteres mit 10-prom. Lösung vor.

Dieser Versuch gelang vollkommen, d. h. die 5 Fußböden erwiesen sich an allen Stellen, sowohl an den homogenen Flächen als in den Fugen, als steril.

---

Diese Resultate führen zum Schlusse, daß die zur Desinfektion von Räumen bisher angewendeten weniger starken Aetzsublimatlösungen ihren Zweck nicht erfüllen und daß hierzu eine 10-prom. Lösung erforderlich ist.

Was die Gefahr anbetrifft, die aus dem Gebrauch eines so starken Giftes entspringen kann, so brauchen wir uns nur auf die mehr als 10-jähr. Praxis zu berufen, die sowohl für das die Infektionen ausführende Personal als für die in die desinfizierten Wohnungen zurückkehrenden Personen keinen Uebelstand ergeben hat.

Andererseits haben neuere Experimente Bertarellis[1]), ausgeführt an Desinfekteuren, an desinfizierte Räume bewohnenden Personen und an Tieren, die in mit Sublimat desinfizierten Räumen gehalten wurden, die gegen das Sublimat erhobene Anklage, daß es wegen seiner hohen Giftigkeit gefährlich sei, als gänzlich ungerecht dargetan.

Tabelle VI.
Kurzer Ueberblick über die mit Formaldehyd ausgeführten Experimente.

| Experimente No. | Umfang des Raumes in cbm | Verbrauchte Formalinmenge | Wie viel g Formaldehyd auf 1 cbm kamen | Maximaltemperatur in °C | Dauer der Formaldehydeinwirkung Std. | Dauer der Erhitzung | Dauer der den Gegenständen verliehenen Rotationsbewegung | positive Resultate pro 100 Proben |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | 15 | 600 | 16 | 25 | 26 | 2 Std. 45 Min. | verschieden | 31 |
| II | 15 | 600 | 16 | 22 | 27 | 1 „ 30 „ | „ | 81 |
| III | 15 | 16 Pastillen | | 30 | 6 | 1 „ 30 „ | „ | 94 |
| IV | 15 | 200 | 5,3 | 82 | 24 | 1 „ 05 „ | 15 Min. | 76 |
| V | 15 | 200 | 5,3 | 83 | 25 | 1 „ 30 „ | 35 „ | 83 |
| VI | 15 | 600 | 16 | 83 | 24 | 1 „ 15 „ | 30 „ | 97 |
| VII | 15 | 500 | 13,3 | 75 | 24 | 1 „ | 50 „ | 58 |
| VIII | 15 | 500 | 13,3 | 77 | 150 | 1 „ 30 „ | 45 „ | 96 |
| IX | 15 | 200 | 5.3 | 80 | 48 | 3 „ | 1 Std. 30 „ | 52 |
| X | 15 | 1000 | 26,6 | 76 | 24 | 1 „ 15 „ | 45 „ | 90 |
| XI | 15 | 1000 | 26,6 | 62 | 28 | 2 „ | 1 „ | 25 |
| XII | 15 | 1000 | 26,6 | 70 | 24 | 2 „ | 1 „ 15 „ | 72 |
| XIII | 15 | 500 | 13,3 | 75 | 49 | 5 „ | 40 „ | 20 |
| XIV | 15 | 2000 | 53,3 | 15 | 26 | — | 20 „ | 93 |
| XV | 15 | 2000 | 53,3 | 60 | 24 | 1 „ | 1 „ | 100 |
| XVI | 15 | 1000 | 26,6 | 60 | 24 | 1 „ | 1 „ | 73 |
| XVII | 15 | 1000 | 26,6 | 60 | 24 | 1 „ | 1 „ | 79 |
| XVIII | 15 | 2000 | 53,3 | 60—70 | 60 | 1 „ | 4 „ | 95 |
| XIX | 15 | 2000 | 53,3 | 55—60 | 24 | 1 „ | 2 „ | 97 |
| XX | 15 | 2000 | 53,3 | 55—60 | 24 | 1 „ | 2 „ | 100 |
| XXI | 15 | 2000 | 53,3 | 55—60 | 24 | 1 „ | 2 „ | 94 |
| XXII | 15 | 2000 | 53,3 | 55—60 | 24 | 1 „ | 2 „ | 98 |
| XXIII | 30 | 2000 | 26,6 | 15 | 30 | keine Erhitzung | keine Bewegung | 35 |
| XXIV | 60 | 1500 | 10 | 25—28 | 24 | | | 67 |
| XXV | 70 | 3500 | 20 | 27—29 | 24 | | | 46 |

1) Giornale della R. Accademia di medicina di Torino. 1902.

Für die Desinfektionspraxis schlagen wir also eine in folgenden Proportionen zu bereitende 50-proz. Sublimatstammlösung vor: 18 Kilo Sublimat werden in einem großen Porzellanmörser allmählich in 9 l Salzsäure, wie solche im Handel vorkommt, aufgelöst; diese Mischung gießt man in ein gläsernes Faß und setzt soviel gewöhnliches Wasser hinzu, daß die Masse 35 l ausmacht; 10 ccm der Stammlösung enthalten dann 5 g Sublimat (50 Proz.) und 2,5 ccm Salzsäure (25 Proz.). Den Salzsäurezusatz glaubten wir beibehalten zu müssen, nicht weil die Salzsäure die Wirksamkeit des Sublimats zu steigern vermag, was ja von anderen in Zweifel gezogen wird, sondern hauptsächlich, weil sie zur Bereitung der Stammlösung von großem Nutzen ist, da sie viel größere Mengen Aetzsublimat und zwar rascher löst als der Alkohol, das Wasser u. s. w., und weil sie die Konservierung der Lösung begünstigt.

Was die Desinfektion von Wohnungen betrifft, bleiben die seit vielen Jahren befolgten Maßregeln [1]) bestehen; doch darf nicht unerwähnt bleiben, daß die Desinfektion der Wände, wegen deren vertikaler Position, die den Abfluß der Flüssigkeit begünstigt und somit ein längeres Verbleiben derselben auf den Wänden unmöglich macht, in einer wirklichen Abwaschung bestehen muß, so daß mit der chemischen Einwirkung die mechanische verbunden wird. Bilderrahmen, Tür- und Fensterpfosten u. s. w., auf denen immer reichlicher und wahrnehmbarer Staub vorhanden ist, müssen sorgfältig abgewaschen werden, zu welchem Zwecke man den Spritzkolben der Pumpe so nahe an sie bringt, daß der Spray den Staub vollständig wegfegt.

Die zur Desinfektion der Wände angewendete größere Flüssigkeitsmenge geht nicht verloren, da sie sich auf dem Fußboden ansammelt, auf den sie dann mittelst geeigneter Besen ausgebreitet wird.

Die Anwendung einer Desinfektionslösung von einheitlichem Titer hat ferner den Vorteil, daß die Desinfekteure nicht zu beurteilen brauchen, ob ein Raum mehr oder weniger schmutzig ist, um eine mehr oder weniger starke Lösung anzuwenden und daß sie somit keinen die Desinfektion beeinträchtigenden Irrtum begehen können.

Auch geht die Bereitung der Desinfektionslösung schneller von statten; denn man kann die Stammlösung in Flaschen von bekannter Kapazität verteilen, deren Inhalt dann einfach mit so und so vielen Litern Wasser verdünnt wird.

Für den Desinfektionsdienst der Stadt Turin wurde ein Kasten mit 12 mit einem geschliffenen Glasstöpsel versehenen Flaschen von 200 ccm Inhalt hergestellt, welche Flaschen mit Stammlösung gefüllt werden; mit einer halben Flasche Stammlösung bereitet man in einem Eimer 5 l 10-prom. Lösung, die auf den Boden gegossen werden, und mit einer ganzen Flasche 10 l Lösung zur Füllung des Spritzapparats.

## II. Das Formaldehyd.

In unseren drei früheren Arbeiten über die Desinfektion mittelst Formaldehyds [2]) bemerkten wir wiederholt, daß wir zwar mit allen anderen Forschern diesem Gas ein hohes Desinfektionsvermögen zuerkennen, es jedoch zur Desinfektion von Wohnungen nicht für geeignet halten; daß es uns aber scheine, dieses Gas lasse sich zur Sterilisation solcher Ge-

1) Abba, Guida per la pratica delle disinfezioni pubbliche e private. Torino 1900.
2) Rivista d'igiene e sanità pubblica, 1897 e 1899. (Zeitschr. f. Hyg. 1898. Giornale della R. Società d'igiene. 1900.

brauchsgegenstände verwenden, die durch flüssige Desinfizientien und den Wasserdampf eine Beschädigung erfahren würden.

Dieser unserer Anschauung beipflichtend, ließ uns die Gemeindeverwaltung in der Turiner Desinfektionsanstalt ein Lokal einrichten, in welchem solche Desinfektionen vorgenommen werden können.



Fig. 1. Desinfektionsstation der Stadt Turin, Anbau zur Desinfektion mittels Formaldehyds. (Ingen. G. Midana.)

Dasselbe besteht aus einem Anbau an die Remise der Desinfektionsöfen (s. Figg.), hat eine vordere Tür *A*, durch welche die infizierten Gegenstände eingeführt, und eine Hintertür *B*, durch welche sie nach erfolgter Desinfektion hinausgebracht werden; auf dieser letzteren Seite befindet sich auch ein seitliches Fenster *C*, das sich von außen öffnen läßt. Die Mauern sind 27 cm dick; die Türen sind Flügeltüren und lassen sich fast hermetisch verschließen; das Fenster hat doppelte

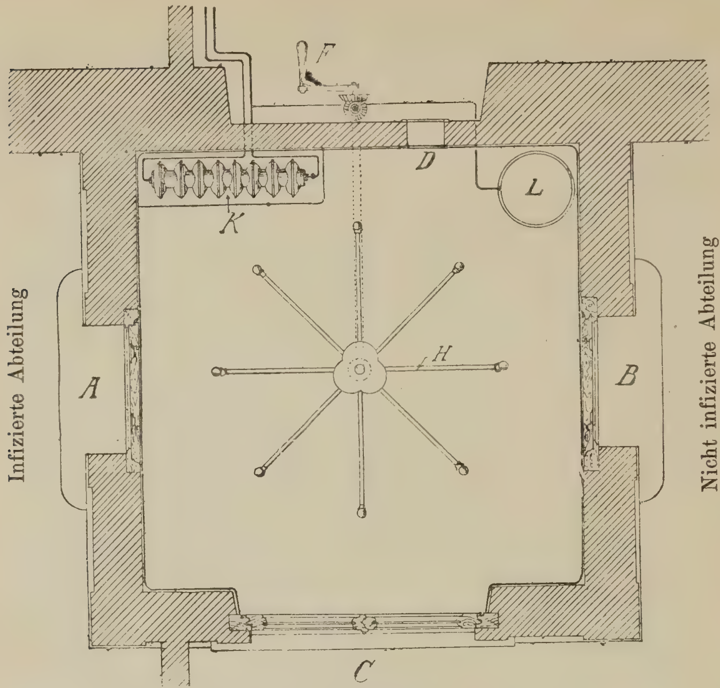



Fig. 2. Plan.

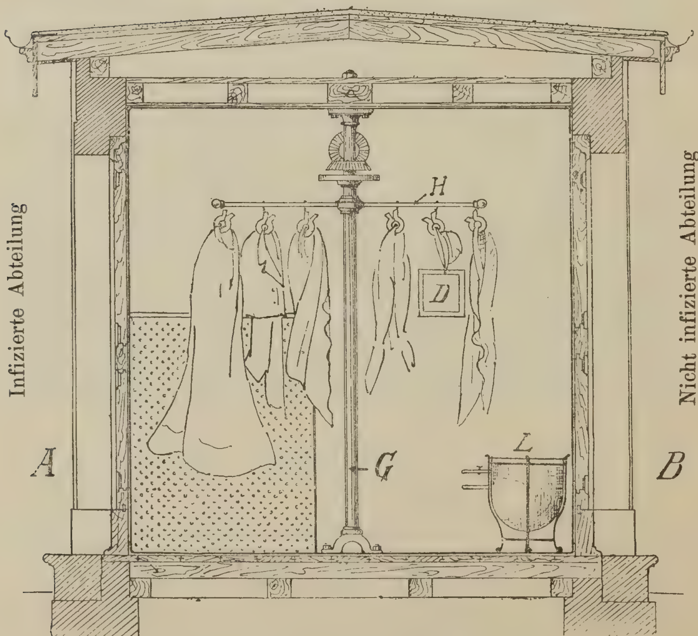



Fig. 3. Längsdurchschnitt (*A B*).

Scheiben, um die Zerstreuung der Hitze zu vermindern; zu diesem gleichen Zwecke besteht unter dem Fußboden und über der Decke ein 20 resp. 30 cm hoher Luftraum. Fußboden, Wände und Decke sind mit 4 cm dicken eingefalzten Brettern von Lärchenholz bekleidet und die Bretter sind ihrerseits mit zusammengelöteten Zinktafeln ausgeschlagen. Dieses Häuschen ist 2,60 m breit und 2,40 m lang, Kapazität etwa 15 cbm.

In der Wand nach der Ofenremise befindet sich ein hermetisch verschlossenes Fensterchen *D* mit Doppelscheiben, durch welches man von der nicht infizierten Seite ins Häuschen sehen kann; neben diesem Fensterchen ist ein rechtwinklig gebogenes Thermometer angebracht, dessen Glaskugel im Innern des Häuschens und dessen Skala an der Wand der Remise sich befindet. Hier ist

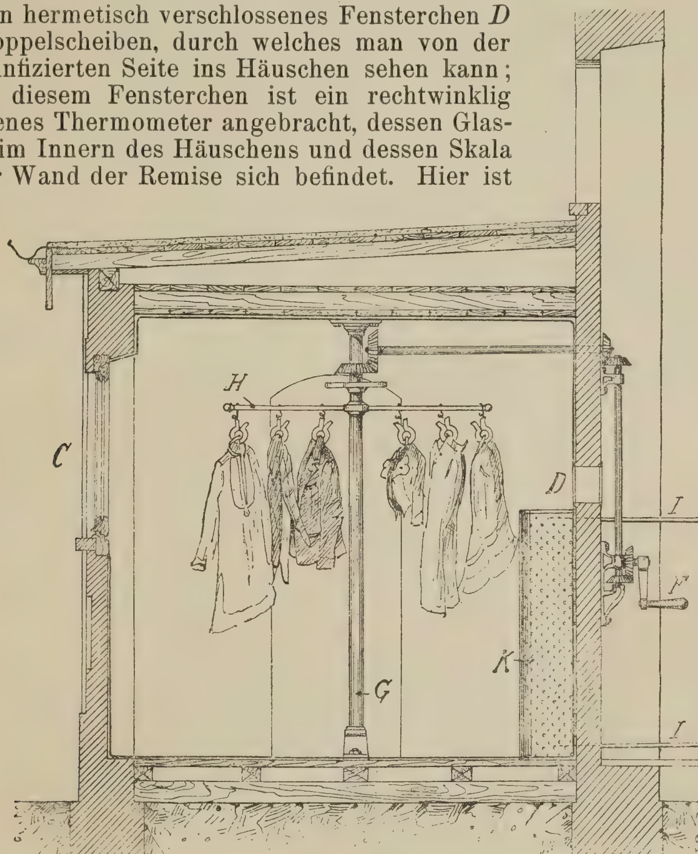



Fig. 4. Querschnitt (*C D*).

auch eine Kurbel *F* angebracht, die mittelst eines Zahnräderwerks einen im Zentrum des Häuschens senkrecht aufgepflanzten Metallstab *G* in rotierende Bewegung setzt; dieser Metallstab trägt an seinem oberen Teile acht strahlenförmig angeordnete eiserne Arme, an welchen mittels großer hölzerner Klemmer die zu desinfizierenden Kleider aufgehängt werden können. Endlich treten durch die gleiche Wand die Zu- und Abflußröhren für den vom Generator des Geneste-Herscherschen Ofens erzeugten Dampf hindurch, der eine im Häuschen an derselben Wand angebrachte Batterie *K* erhitzt.

Nachdem die Tür *B* und das Fenster *C* auf der nicht infizierten

Seite gut verschlossen worden sind, öffnet man die Tür *A* der infizierten Seite, hängt die zu desinfizierenden Kleider, Hüte, Schleier u. s. w. an den besagten Armen auf und schließt die Tür. Dann läßt man den Dampf in die Batterie *K* treten, wodurch die Innentemperatur des Häuschens, je nach der Jahreszeit mehr oder weniger schnell, bis (wenn man will) auf 80° C erhöht wird, und läßt auf die weiter unten beschriebene Weise die Formaldehydentwickelung stattfinden, während man mittelst der Kurbel *F* die Stange *GH* in Rotation setzt und zwar bald in einer, bald in der entgegengesetzten Richtung, so daß die infizierten Gegenstände tüchtig geschüttelt werden und an allen Stellen mit dem Formaldehyd in Berührung kommen, und gleichzeitig das nach oben strebende Formaldehyd gleichmäßig im Raume verteilt wird.

Zur Entwickelung des zur Desinfektion der infizierten Gegenstände erforderlichen Formaldehyds erkannten wir nach mehreren Versuchen, die wir bei den einzelnen Experimenten der Kürze wegen nur kurz erwähnen werden, als die einfachste und praktischste Methode die der Nebulisierung mittelst einer unter Druck stehenden Spritzpumpe, wie es die in unserer Desinfektionsanstalt angewendete Igea ist.

Zu diesem Zwecke führten wir in diese Formalin, wie es im Handel vorkommt (40 Proz.), ein, verdünnten es in den bei den Experimenten angegebenen Proportionen mit Wasser und setzten die Pumpe unter Druck; nachdem der Spritzkolben durch ein Loch am unteren Teile der Tür *B* der nichtinfizierten Seite ins Häuschen eingeführt worden war, wurde der Hahn geöffnet und die Nebulisierung des Formaldehyds erfolgte in wenigen Minuten.

In einem Winkel des Häuschens, nahe der Batterie *K*, wurde noch ein Eimer *L* mit 10 l Wasser gesetzt und dieses durch Zuführung von Dampf aus dem Geneste-Herscherschen Ofen erhitzt, damit der Raum sich mit Wasserdampf sättigte.

Nachstehend teilen wir unsere in einem Zeitraum von mehr als 2 Jahren zu verschiedenen Jahreszeiten ausgeführten Experimente mit.

I. Experiment, ausgeführt am 23. März 1900.

Verschiedene Kleidungsstücke, Lappen u. s. w. wurden an den Stangen aufgehängt, zwei gepolsterte Stühle und ein kleines Sofa auf den Boden gestellt, Bücher, Karten, Spielsachen zum Teil auf dem Boden, zum Teil auf den Möbeln ausgebreitet. Ein an der Decke hängender Apparat wurde mit 600 ccm Formalin beschickt, das aus ihm herabträufelte. — Um 16 Uhr 15 Min. — Außentemperatur 12° C — Initialtemperatur im Innern des Häuschens 14° C. Von Zeit zu Zeit wurde der Stab in Rotation versetzt, der Dampf wurde in die Batterie eingelassen.

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Um | 16 | Uhr | 40 | Min. | Temperatur | 20° | C | |
| „ | 16 | „ | 55 | „ | „ | 22° | „ | |
| „ | 17 | „ | — | „ | „ | 24° | „ | |
| „ | 17 | „ | 45 | „ | „ | 24,5° | „ | |
| „ | 18 | „ | — | „ | „ | 25° | „ | Erhitzung und Rotation hörten auf |

Am 24. März um 18 Uhr wurden das Fenster und die Hintertür aufgemacht; es strömte ein starker Formaldehydgeruch heraus. Wenige Minuten darauf sammelten wir das Untersuchungsmaterial, d. h. wir schnitten Stücke aus den Kleidern, Strümpfen u. s. w. aus und entnahmen von verschiedenen Flächen Staub; mit diesem letzteren legten wir Kulturen in Zenonischen Gläschen[1]) an. Die aus den Kleidern geschnittenen Stücke brachten wir, in sterilisierten Petrischen Schälchen verschlossen, ins Laboratorium, wo wir sie sogleich mit sterilisierten Instrumenten zerkleinerten und mit diesen Materialien Bouillonkulturen anlegten, die wir im Brütschrank bei 37° C hielten und nach nicht weniger als 10 Tagen untersuchten.

1) l. c.

Ausgang des I. Experimentes.

4. August. Von verschiedenen Flächen entnommener Staub.

| | |
|---|---|
| Staub vom Fußboden | + + |
| „ von den Wänden | + + — |
| „ vom Sofa | + + + |
| „ von den Spielsachen | + + + + |
| „ vom Fenster | + — |
| „ vom Fensterrahmen | + |
| „ von den Büchern | + + + + — |
| „ von den Lappen | + |

Stücke von Kleidern, Strümpfen u. s. w. direkt in Bouillon kultiviert.

| | |
|---|---|
| 1) engmaschige Kinderstrümpfe | + + + + + + — |
| 2) weitmaschige Männerstrümpfe | + + + + + + — |
| 3) Männerstrümpfe mit sehr weiten Maschen | + + + + + + + |
| 4) grobes Wollenzeug | + + + + + + + |
| 5) doppelt zusammengenähter Hosenboden | — — — — — — — |
| 6) gesteppter und außen rauher Brustlatz | + + + + + — — |
| 7) weitmaschige Packleinwand | + — — — — — — |
| 8) in mehrere Lagen zusammengenähte Packleinwand | + + + — — — — |

II. Experiment, ausgeführt am 25. März 1900.

Wir ließen die zum I. Experiment benutzten Kleidungsstücke hängen, die Möbel, Bücher und Spielsachen ließen wir hinaustragen.

Den an der Decke hängenden Apparat beschickten wir mit 600 ccm Formalin zum Abträufeln.

Um 11 Uhr Außentemperatur 10° C, Innentemperatur 12° C.

Von 11 Uhr bis 12 Uhr 30 Min., zu welcher Stunde Erhitzung und Rotation aufhörten, stieg die Temperatur auf 22° C.

Am 26. März um 14 Uhr sammelten wir das Material.

Ausgang des II. Experimentes.

4. April. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) Kinderstrümpfe | + + — — — — |
| 4) grobes Wollenzeug | + + — — — — |
| 5) Hosenboden | — — — — — — |
| 6) Brustlatz | + + + + — — |
| 7) Packleinwand | [1]) —*—*— — — — |
| 8) zusammengenähte Packleinwand | —*—*— — — — |
| 9) Leinenzeug | — — — — — — |
| 10) baumwollenes Band | + —*—*— — — |

III. Experiment, ausgeführt am 27. März 1900.

Die zum II. Experiment benutzten Gegenstände ließen wir nochmals im Häuschen. Statt des abträufelnden Formalins ließen wir den bekannten formogenen Apparat „Aeskulap“ funktionieren; derselbe wurde mit 16 Paraformaldehydplätzchen beschickt, eine Menge, die, nach den Angaben der den Apparat herstellenden Firma, zur Desinfektion eines 35 kbm messenden Raumes genügt.

Um 17 Uhr Außentemperatur 11° C, Innentemperatur 13° C.

Um 17 Uhr 48 Min. hatte die Innentemperatur 30° C erreicht, hierauf nahm sie ab und war um 18 Uhr 30 Min., als die Erhitzung aufhörte, 20° C.

Mit der Rotation wurde erst um 18 Uhr 30 Min. begonnen, als die Flamme des Aeskulapapparates erloschen war; die höchste erreichte Temperatur war eben durch diese Flamme bedingt.

Am 27. März um 17 Uhr Sammlung des Materiales.

Ausgang des III. Experimentes.

7. April. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) Kinderstrümpfe | — — — — — — |
| 3) Männerstrümpfe | — — — — — — |
| 4) Wollenzeug | + + —*—*— — |
| 5) Hosenboden | — — — — — — |
| 6) Brustlatz | — — — — — — |
| 7) Packleinwand | — — — — — — |
| 8) „ | — — — — — — |
| 9) Leinenzeug | + — — — — — |

1) Bei den mit * bezeichneten negativen Versuchen blieb die Bouillon steril bezüglich der Schizomyceten, doch entwickelten sich in ihr die Hyphomyceten.

## Resumé der ersten drei Experimente.

Das erste dieser drei Experimente gab nur 31 Proz. positiver Resultate; die anderen beiden gaben 77 Proz. resp. 94 Proz., taten aber dar, daß man, um bessere Wirkungen zu erhalten, entweder die Anzahl der zu desinfizierenden Gegenstände verringern oder die Formaldehydmenge vermehren oder die Temperatur des Raumes erhöhen müsse.

Wir brachten deshalb zunächst eine Batterie im Häuschen an, die sehr hohe Temperaturen zu erhalten gestattete und gingen bei den weiteren Experimenten, wie man sehen wird, etwas behutsam zu Werke, um die verschiedenen zu einer sicheren Desinfektion erforderlichen Verhältnisse ausfindig zu machen.

### IV. Experiment, ausgeführt am 2. Juli 1900.

Es wurden Kleidungsstücke von in der Morgue ausgestellten Leichen gewählt; dieselben waren sehr schmutzig, da sie fast alle von ertrunkenen Individuen herrührten; zu den verschiedenen Experimenten wurden gewöhnlich 10—15 Kleidungsstücke an den Stangen aufgehängt.

Formalin zum Abträufeln 500 ccm.

| | |
|---|---|
| Um 15 Uhr 30 Min. | Außentemperatur 30° C. Innentemperatur 28,5° C |
| „ 15 „ 45 „ | Innentemperatur 70° C. Rotation des die Kleidungsstücke tragenden Stabes 5 Minuten lang; die Temperatur geht auf 65° C hinab |
| „ 16 „ 5 „ | Temperatur 80° C. Rotation 5 Minuten lang; die Temperatur sinkt auf 75° C |
| „ 16 „ 25 „ | Temperatur 82° C. Rotation 5 Minuten lang; die Temperatur sinkt auf 76° C |
| „ 16 „ 35 „ | hörte die Erhitzung auf. Temperatur 76° C. |
| „ 18 „ — „ | Temperatur 52° C |

Am 3. Juli um 15 Uhr Sammlung des Materiales. Man konstatierte, daß nur 200 ccm Formalin verbraucht waren.

### Ausgang des IV. Experimentes.

13. Juli. Untersuchung der Kulturen.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1) verhältnismäßig reines, dünnes Leinenhemd | + | + | + | —* | —* | —* |
| 2) verhältnismäßig reines Tischtuch (mit gesticktem Namenszeichen) | + | + | + | + | —* | —* |
| 3) verhältnismäßig reine Unterhosen | + | + | + | + | + | —* |
| 4) Hosentasche (Naht) | —* | — | — | — | — | — |
| 5) Bauchgurt (in mehrere Lagen zusammengenäht) | —* | —* | —* | —* | —* | —* |
| 6) mit Unterfutter versehene Hosen von dünnem Tuch (in 3 Doppellagen zusammengenäht) | —* | — | — | — | — | — |
| 7) grobes, haariges schwarzes Tuch | —* | —* | — | — | — | — |
| 8) weißer baumwollener Trikot | + | + | —* | —* | —* | — |
| 9) baumwollene Strümpfe | — | — | — | — | — | — |
| 10) lederner Hosenträger | —* | —* | — | — | — | — |

### V. Experiment, ausgeführt am 25. Juli 1900.

Es wurden Kleidungsstücke und Wäsche aufgehängt; in einen Winkel nahe der Batterie wurde ein breites Gefäß mit 10 l Wasser gestellt, um dem Raum mehr Feuchtigkeit zu verleihen.

Formalin zum Abträufeln 600 ccm.

| | |
|---|---|
| Um 10 Uhr — Min. | Außentemperatur 30° C. Innentemperatur 32° C |
| „ 10 „ 15 „ | Innentemperatur 72° C. Rotation 5 Minuten lang; die Temperatur sinkt auf 70° C |
| „ 10 „ 35 „ | Temperatur 80° C. Rotation 5 Minuten lang; die Temperatur sinkt auf 76° C |
| „ 10 „ 55 „ | Temperatur 83° C. Rotation 5 Minuten lang; die Temperatur sinkt auf 78° C. |
| „ 11 „ 5 „ | Temperatur 80° C |
| „ 11 „ 20 „ | „ 82° C. Rotation 10 Minuten lang |
| „ 11 „ 30 „ | „ 80° C. Erhitzung hört auf |
| „ 12 „ — „ | Temperatur 62° C. Rotation 5 Minuten lang; die Temperatur steigt auf 66° C |
| „ 14 „ — „ | Temperatur 44° C. Rotation 5 Minuten lang; die Temperatur sinkt auf 46° C |

„ 15 „ — „ Temperatur 44° C. Rotation 5 Minuten lang; die Temperatur sinkt auf 38° C

Am 26. Juli um 11 Uhr Sammlung des Materiales. Man konstatierte, daß nur 200 ccm Formalin verbraucht waren, aus dem Wasserbecken waren 6 l Wasser verdunstet.

### Ausgang des V. Experimentes.

6. August. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) Tischtuch | — — — — — — |
| 2) Unterhosen (Naht) | + + — — — — |
| 3) Hosentasche (Naht) | + + + — — — |
| 4) Bauchgurt (in mehrfache Lagen zusammengenähter) | — — — — — — |
| 5) baumwollener Trickot | — — — — — — |
| 6) baumwollene Strümpfe | + —* — — — — |

### VI. Experiment, ausgeführt am 27. Juli 1900.

Kleidungsstücke und Wäsche wie vorher. Formalin zum Abträufeln 600 ccm.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Um 10 Uhr 30 Min. | Außentemperatur 29° C. | Innentemperatur 28° C | |
| „ 10 „ 45 „ | Innentemperatur | 75° „ | Rotation 10 Minuten lang |
| „ 10 „ 55 „ | „ | 75° „ | |
| „ 11 „ 10 „ | „ | 80° „ | do. |
| „ 11 „ 20 „ | „ | 80° „ | |
| „ 11 „ 35 „ | „ | 83° „ | do. |
| „ 11 „ 45 „ | „ | 80° „ | Erhitzung hörte auf. |
| „ 13 „ 30 „ | „ | 48° „ | |
| „ 16 „ — „ | „ | 34° „ | |

Am 28. Juli um 11 Uhr Sammlung des Materiales. Alles Formalin war verbraucht, 3 l Wasser verdunstet.

### Ausgang des VI. Experimentes.

6. August. Untersuchung der Kulturen:

| | |
|---|---|
| 1) leinenes Hemd | — — — — — — |
| 2) Tischtuch | —* — — — — — |
| 3) ein anderes Tischtuch | —* —* — — — — |
| 4) Unterhosen (Naht) | + —* — — — — |
| 5) Hosentasche (Naht) | + — — — — — |
| 6) Bauchgurt (in mehrfache Lagen zusammengenähter) | — — — — — — |
| 7) grobes, haariges Tuch | — — — — — — |
| 8) baumwollenes Trickot (Naht) | —* —* —* — — — |
| 9) baumwollene Strümpfe | — — — — — — |
| 10) lederner Hosenträger | — — — — — — |

### VII. Experiment, ausgeführt am 28. August 1900.

Ca. 30 verschiedene Kleidungsstücke. Formalin zum Abträufeln 500 ccm.

Begonnen um 10 Uhr 20 Min. Während 1 Stunde wurde der Stab abwechselnd 10 Minuten lang rotiert und 10 Minuten lang in Ruhe gelassen. Initialtemperatur 22° C, höchste Temperatur 75° C.

| | |
|---|---|
| Um 11 Uhr 30 Min. | Temperatur 70° C |
| „ 11 „ 40 „ | Rotation 5 Minuten lang; Temperatur 67° C |
| „ 12 „ — „ | „ 5 „ „ „ 50° „ |
| „ 14 „ — „ | „ 5 „ „ „ 40° „ |
| „ 16 „ — „ | „ 5 „ „ „ 30° „ |

Am 29. August um 11 Uhr Sammlung des Materiales. Alles Formalin war verbraucht, 2 l Wasser verdunstet.

### Ausgang des VII. Experimentes.

12. September. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) rauhes, schwarzes Tuch | + + + + + + |
| 2) in mehrfache Lagen zusammengenähtes schwarzes Tuch | + + + + + + |
| 3) in mehrfache Lagen zusammengenähter Bauchgurt | + + + + + + |
| 4) aus Baumwolle und Wolle bestehendes Gewebe | + + + + —* — |
| 5) grobes, baumwollenes Trickot | — — — — — — |
| 6) Unterfutterstoff | —* —* —* —* — — |
| 7) mehrfach zusammengelegte Unterhosen | — — — — — — |
| 8) in mehrfache Lagen zusammengenähte Halsbinde | —* — — — — — |
| 9) in 2 Doppellagen zusammengenähte baumwollene Tasche | — — — — — — |
| 10) Tuch mit Unterfutter (in mehrfache Lagen zusammengenäht) | + + + —* —* — |

### VIII. Experiment, ausgeführt am 19. November 1900.

Außer der gewöhnlichen Anzahl schmutziger und abgenutzter Kleidungsstücke wurden auch zwei große Pelzkragen aufgehängt. Formalin zum Abträufeln 500 ccm.

Um 10 Uhr Initialtemperatur 7° C. Während $1^1/_2$ Stunden wurde der Stab abwechselnd 15 Minuten lang rotiert und 15 Minuten lang in Ruhe gelassen.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Um | 10 Uhr | 45 Min. | Temperatur | 40° | C | Rotation 15 Minuten lang |
| „ | 10 „ | 30 „ | „ | 66° | „ | |
| „ | 10 „ | 45 „ | „ | 57° | „ | do. |
| „ | 11 „ | — „ | „ | 72° | „ | |
| „ | 11 „ | 15 „ | „ | 77° | „ | do. |
| „ | 11 „ | 30 „ | „ | 76° | „ | Erhitzung hört auf |
| „ | 12 „ | — „ | „ | 60° | „ | |
| „ | 14 „ | — „ | „ | 30° | „ | |
| „ | 16 „ | — „ | „ | 25° | „ | |

Am 23. November um 16 Uhr Sammlung des Materiales. Obgleich 4 Tage verflossen waren, wurde ein starker Formaldehydgeruch wahrgenommen; alles Formalin war verbraucht, 2 l Wasser verdunstet.

### Ausgang des VIII. Experimentes.

11. Dezember. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) Pelzwerk | —* —* —* —* —* —* —* —* —* —*<br>— — — — — — — — — — |
| 2) doppelt zusammengenähtes dünnes Tuch | + —* —* —* —* — — — — |
| 3) mit Pelz gefüttertes Leibchen | + —* — — — — — — — — |
| 4) in mehrf. Lagen zusammengenähte Unterhosen | —* —* — — — — — |
| 5) Hosen mit Unterfutter | + —* — — — — — — |
| 6) rauhes, dickes Tuch | —* —* —* —* —* —* —* —* |
| 7) gefütterte Hosen (doppelt zusammengenäht) | — — — — — — — |
| 8) in mehrfache Lagen zusammengenähte Halsbinde | —* —* — — — — — |
| 9) Strumpf | —* — — — — — — |

### IX. Experiment, ausgeführt am 29. November 1900.

Außer den gewöhnlichen Kleidungsstücken wurden auch mehrere Stücke Pelzwerk aufgehängt.

Formalin zum Abträufeln 500 ccm.

Um 11 Uhr 30 Min. Initialtemperatur 8° C. Während 3 Stunden wurde der Stab abwechselnd 30 Minuten lang rotiert und 30 Minuten lang in Ruhe gelassen.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Um | 12 Uhr | — Min. | Temperatur | 30° | C | |
| „ | 12 „ | 30 „ | „ | 47° | „ | Rotation 30 Minuten lang |
| „ | 13 „ | — „ | „ | 77° | „ | |
| „ | 13 „ | 30 „ | „ | 60° | „ | do. |
| „ | 14 „ | — „ | „ | 80° | „ | |
| „ | 14 „ | 30 „ | „ | 63° | „ | do. |
| „ | 15 „ | — „ | „ | 55° | „ | Erhitzung hört auf |
| „ | 15 „ | 45 „ | „ | 48° | „ | |
| „ | 16 „ | — „ | „ | 47° | „ | |
| „ | 17 „ | — „ | „ | 36° | „ | |
| „ | 18 „ | — „ | „ | 32° | „ | |
| „ | 19 „ | — „ | „ | 25° | „ | |

Am 1. Dezember um 12 Uhr Sammlung des Materiales. Nur 200 ccm Formalin waren verbraucht.

### Ausgang des IX. Experimentes.

11. Dezember. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) Pelzwerk mit langen, dichten Haaren | + + + + + + + + + +<br>+ + + + + + —* —* —* —*<br>—* — — — — — — — — — |
| 2) Ziegenpelz mit langen Haaren | — — — — — |
| 3) Spitzen aus schwarzer Seide | + + — — |
| 4) Spitzen aus roter Wolle | + — — — — — |
| 5) in mehrf. Lagen zusammengenähtes Wollenzeug | + + + + + |
| 6) „ „ „ „ „ | + + + —* — — — |
| 7) in mehrf. Lagen zusammengenähte Tasche von einem Ueberrock | + + + + + —* —* —* — — |

### X. Experiment, ausgeführt am 3. Dezember 1900.

Außer den zum IX. Experiment benutzten 2 Stücken Pelzwerk wurden mehrere Kleidungsstücke aufgehängt.

Formalin zum Abträufeln 1000 ccm.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Um | 11 Uhr | — Min. | Initialtemperatur | 10° | C | |
| „ | 11 „ | 15 „ | Temperatur | 35° | C | Rotation 30 Minuten lang |
| „ | 11 „ | 45 „ | „ | 72° | „ | |
| „ | 12 „ | — „ | „ | 55° | „ | do. |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Um | 12 Uhr | 15 Min. | Temperatur | 76° C | Erhitzung hört auf |
| „ | 12 „ | 20 „ | „ | 65° „ | |
| „ | 12 „ | 30 „ | „ | 53° „ | |
| „ | 14 „ | — „ | „ | 35° „ | |
| „ | 16 „ | — „ | „ | 25° „ | |
| „ | 18 „ | — „ | „ | 15° „ | |

Am 11. Dezember um 11 Uhr Sammlung des Materiales. Alles Formalin war verbraucht.

Ausgang des X. Experimentes.

12. Dezember. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) schon zum IX. Experiment benutztes Pelzwerk (No. 1) | + + + + — — — — — — |
| 2) schon zum IX. Experiment benutztes Pelzwerk (No. 2) | — — — — — — — — |
| 3) Wollenzeug mit Spitzen | — — — — — — — |
| 4) gesteppter, rauher Brustlatz | — — — — — — — |
| 5) wollener Schal mit Spitzenbesatz | — — — — — — — — — — — |
| 6) schon zum IX. Experiment benutztes Wollenzeug (No. 6) | + — — — — — — |
| 7) wollenes Hemde | + — — — — — — — |

XI. Experiment, ausgeführt am 12. Dezember 1900.

Kleidungsstücke wie gewöhnlich.

Formalin zum Abträufeln 1000 ccm.

Um 11 Uhr Initialtemperatur 10° C. Dauer des Experimentes 2 Stunden, während der ersten Stunde wurde der Stab beständig rotiert, bald rechts, bald links herum. Zwischen 11 und 12 Uhr stieg die Temperatur auf 62° C.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Um | 12 Uhr | 30 Min. | Temperatur | 58° C | |
| „ | 13 „ | — „ | „ | 62° „ | Erhitzung hört auf |
| „ | 13 „ | 30 „ | „ | 58° „ | |
| „ | 14 „ | — „ | „ | 48° „ | |
| „ | 15 „ | — „ | „ | 32° „ | |
| „ | 16 „ | — „ | „ | 27° „ | |
| „ | 17 „ | — „ | „ | 23° „ | |
| „ | 18 „ | — „ | „ | 20° „ | |

Am 13. Dezember um 15 Uhr Sammlung des Materiales. Alles Formalin war verbraucht, 2 l Wasser verdunstet.

Ausgang des XI. Experimentes.

27. Dezember. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) gefüttertes dünnes Wollenzeug | + + + + + + |
| 2) dünnes Tuch | + + + + + + |
| 3) dünnes Seidenzeug | — — — |
| 4) Gewebe aus Seide und Baumwolle | + + + |
| 5) Unterfutter | + + + + + |
| 6) baumwollene Spitzen | + + + + + |
| 7) dünnes Wollenzeug | — — — — — |
| 8) Zwirnspitzen | + + + + + |
| 9) ganz dünner Musselin | + + + + + |
| 10) dünner Flanell | + + + + + + |
| 11) Manchestersammt | + + + — — |
| 12) dünnes Seidengewebe | + — — — — — |

XII. Experiment, ausgeführt am 14. Dezember 1900.

Zu den zum XI. Experiment benutzten Kleidungsstücken wurden noch einige andere sowie ein Pelzkragen hinzugefügt.

Formalin zum Abträufeln 1000 ccm.

Begonnen um 10 Uhr 30 Min. Während 2 Stunden wurde der Stab abwechselnd 15 Minuten lang rotiert und 15 Minuten lang in Ruhe gelassen. Initialtemperatur 10° C. Rotation 15 Minuten lang.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Um | 10 Uhr | 45 Min. | Temperatur | 30° C | |
| „ | 11 „ | — „ | „ | 45° „ | Rotation 15 Minuten lang |
| „ | 11 „ | 15 „ | „ | 65° „ | |
| „ | 11 „ | 30 „ | „ | 50° „ | do. |
| „ | 11 „ | 45 „ | „ | 70° „ | |
| „ | 12 „ | — „ | „ | 56° „ | do. |
| „ | 12 „ | 15 „ | „ | 65° „ | |
| „ | 12 „ | 30 „ | „ | 60° „ | Erhitzung hört auf |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Um 13 Uhr | — Min. | Temperatur | 49° C | |
| „ 14 „ | — „ | „ | 46° „ | |
| „ 15 „ | — „ | „ | 29° „ | Rotation 15 Minuten lang |
| „ 15 „ | 15 „ | „ | 25° „ | |
| „ 15 „ | 30 „ | „ | 25° „ | |
| „ 16 „ | — „ | „ | 24° „ | |
| „ 17 „ | — „ | „ | 20° „ | |

Am 15. Dezember um 10 Uhr 30 Min. Sammlung des Materiales. Alles Formalin war verbraucht.

Ausgang des XII. Experimentes.

27. Dezember. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) Pelzkragen | + + + + |
| 2) dünnes Tuch (vom XI. Experiment) | + —*—*—*—*— |
| 3) Seidentroddel | + + —*—*— |
| 4) Gewebe aus Seide und Baumwolle (vom XI. Experiment) | —*—*—*—*— |
| 6) dünnes Wollenzeug (vom XI. Experiment) | + —*—*—*— |
| 9) ganz dünner Musselin (vom XI. Experiment) | + + —*—*— |
| 10) dünner Flanell (vom XI. Experiment) | + —*— — — |
| 12) dünnes Seidengewebe (vom XI. Experiment) | + —*—*— — |

XIII. Experiment, ausgeführt am 3. Januar 1901.

Es wurden einige Stücke Pelzwerk, Schale, Federbüsche u. s. w. aufgehängt. Formalin zum Abträufeln 1000 ccm.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Um 11 Uhr | — Min. | Initialtemperatur | + 0,5° C | |
| „ 11 „ | 20 „ | Temperatur | 45° C | Rotation 10 Minuten lang |
| „ 11 „ | 40 „ | „ | 65° „ | |
| „ 12 „ | — „ | „ | 60° „ | |
| „ 13 „ | — „ | „ | 54° „ | |
| „ 13 „ | 30 „ | „ | 50° „ | Rotation 30 Minuten lang |
| „ 14 „ | — „ | „ | 70° „ | |
| „ 14 „ | 30 „ | „ | 65° „ | |
| „ 15 „ | — „ | „ | 65° „ | |
| „ 16 „ | — „ | „ | 75° „ | Erhitzung hört auf |
| „ 17 „ | — „ | „ | 50° „ | |
| „ 18 „ | — „ | „ | 39° „ | |
| „ 19 „ | — „ | „ | 25° „ | |

Am 5. Januar 1901 um 12 Uhr Sammlung des Materiales. Es waren 500 ccm Formalin verbraucht.

Ausgang des XIII. Experimentes.

21. Januar. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| Federbüsche | + + + + + —*—* — — |
| Pelzwerk | + + + + + + |
| Schalfransen | + + + + + + + + + |
| | + + + — — |

## Resumé des IV.—XIII. Experimentes.

Bei dieser Reihe von Experimenten wurden die Formalinmenge, die Temperatur und die Dauer der Erhitzung und der Rotation in verschiedenem Grade variiert, ohne daß sich jedoch genaue Normen für die Praxis finden ließen. Denn während das X. Experiment, bei welchem die Formalinmenge auf 1000 ccm erhöht wurde, wie wir sehen, 90 Proz. positiver Resultate gab, gab das XI., bei welchem die gleiche Menge Formalin angewendet und die übrigen Verhältnisse wenig verändert wurden, nur 25 Proz.; ferner bemerkten wir, daß bessere Resultate (97 Proz. und 96 Proz. beim VI. und VIII. Experiment) mit geringerer Formalinmenge und höherer Temperatur des Raumes erhalten wurden.

Wir gebrauchten deshalb in der Folge noch eine größere Menge Formalin, da die Temperatur, besonders wenn man es mit Pelzwerk zu tun hat, nicht übermäßig erhöht werden darf; bei dieser 3. Reihe von Experimenten wendeten wir einen von der Firma Zambelli und Omodei in Turin nach der Zeichnung des Dr. Honoré von Montevideo konstruierten formogenen Apparat an.

### XIV. Experiment, ausgeführt am 10. April 1901.

Zahlreiche schmutzige Kleidungsstücke wurden aufgehängt. Mittels des Honoréschen Apparates wurden 2000 ccm Formalin in 20 Minuten (bei einem Druck von 2 Atmosphären) nebulisiert. Der Raum wurde nicht geheizt.

Um 11 Uhr Innentemperatur 12°—15° C. Rotation 20 Minuten lang.

Am 11. April um 13 Uhr Sammlung des Materiales. Ein unerträglicher Formaldehydgeruch erfüllt den Raum.

#### Ausgang des XIV. Experimentes.

24. April. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) doppelt zusammengenähter Flanell | —* — — — — — — |
| 2) Taschentuch aus Seide und Baumwolle | — — — — — — |
| 3) in mehrfache Lagen zusammengenähter Hosengurt | — — — — — — |
| 4) sehr dickes, rauhes Tuch | —* —* —* —* —* |
| 5) Wollenschalfransen | + + — — — — |
| 6) baumwollener Strumpf | + —* —* —* —* —* |
| 7) doppelt zusammengenähtes Unterfutter | —* —* —* — — — |
| 8) wollene Unterjacke | — — — — — — |

### XV. Experiment, ausgeführt am 22. April 1901.

Kleidungsstücke wie gewöhnlich.

Um 11 Uhr wurde der Honorésche Apparat mit 2000 ccm in Funktion gesetzt. Der Raum wurde 1 Stunde lang auf 60° C erhitzt. Rotation 1 Stunde lang.

Am 23. April um 11 Uhr Sammlung des Materiales.

#### Ausgang des XV. Experimentes.

7. Mai. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) in mehrfache Lagen zusammengenähter gefütterter Hosengurt | — — — — — — — — — |
| 2) baumwollener Strumpf | — — — — — — — |
| 3) in 4 Doppellagen zusammengenähte Halsbinde aus Seide und Baumwolle | —* — — — — |
| 4) in mehrfache Lagen zusammengenähte gefütterte Leibbinde | —* — — — — — |
| 5) sehr schmutzige grobe, wollene Unterjacke | —* —* —* —* —* —* —* —* —* —* |
| 6) dickes, rauhes Tuch | —* —* —* —* —* —* — |

### XVI. Experiment, ausgeführt am 20. Mai 1901.

Verhältnisse wie beim XIV. Experiment; nur 1 l Formalin mit 2 l Wasser versetzt, wurde nebulisiert.

24 Stunden darauf Sammlung des Materiales.

#### Ausgang des XVI. Experimentes.

7. Juni. Sammlung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) in 3 Doppellagen zusammengenähtes Wollenzeug | + —* —* —* — — — — |
| 2) dünnes, baumwollenes Maschenwerk | — — — — — — — — |
| 3) schmutziges, in 5—6 Doppellagen zusammengenähtes wollenes Maschenwerk | + + + —* —* — — — |
| 4) wollene Unterjacke | + + + + + —* —* |
| 5) in 3—4 Doppellagen zusammengenähter Mantelkragen aus Sammt | —* — — — — — — |
| 6) baumwollener Strumpf | + + + + + —* — |
| 7) in 3—4 Doppellagen zusammengenähtes Tuch | —* — — — — — — |

### XVII. Experiment, ausgeführt am 29. Mai 1901.

Wiederholung des XVI. Experimentes mit anderen Kleidungsstücken.

#### Ausgang des XVII. Experimentes.

17. Juni. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| 1) baumwollenes Band | — — — — — — — — — |
| 2) in 3—4 Doppellagen zusammengenähtes Baumwollenzeug | — — — — — — |
| 3) grobes Handtuch | + + — — — — — |
| 4) Seegras | — — — — |
| 5) mit Blut und Eiter beschmutzte doppelt zusammengenähte Leinwand | + + + + — — — — |
| 6) mit Blut und Eiter beschmutzte Leinwand in einfacher Lage | + + + — — — — — — |

## Resumé des XIV.—XVII. Experimentes.

Diese 4 Experimente, von denen zwei je mit 2 l und zwei je mit 1 l Formaldehyd ausgeführt wurden, gaben gute Resultate; das Optimum derselben wurde beim XV. Experiment erreicht, welches, das Wachstum von Hyphomyceten in den Bouillonkulturen nicht in Rechnung gezogen, 100 Proz. positiver Resultate gab (Tab. IV).

Dadurch ermutigt, nahmen wir eine weitere Reihe Experimente vor, bei welcher wir das Formaldehyd auf einfachere Weise mittels der bereits erwähnten Pumpe „Igea“ nebulisierten.

XVIII. Experiment, ausgeführt am 19. August 1901.

Schmutzige Kleidungsstücks wie gewöhnlich.

Mittels der Pumpe Igea wurden 2000 ccm Formalin, mit 2000 ccm Wasser versetzt, nebulisiert, und zwar in 10 Minuten.

Während der Nebulisation und noch 1 Stunde lang nachher wurde der Stab mit den daran hängenden Gegenständen rotiert.

Die Temperatur schwankte während 1 Stunde zwischen 60° und 70° C.

24 Stunden darauf nochmals Rotation 1 Stunde lang; diese Operation wurde nach 36 und nach 48 Stunden wiederholt; nach 60 Stunden Sammlung des Materiales.

Ausgang des XVIII. Experimentes.

10. September. Untersuchung der Kulturen.

| | |
|---|---|
| in 3 Doppellagen zusammengenähte Unterhosenleinwand | —* —*— — — — — — — |
| in 4—5 Doppellagen zusammengenähter Kattun | —*— — — — — — — — — |
| in 3 Doppellagen zusammengenähte Hosen | + + —*— — — — — — |
| dicker Flanell in einfacher Lage | —*— — — — — — — — |
| gestrickte wollene Unterjacke mit Nähten | —*— — — — — — |
| in 3 Doppellagen zusammengenähte gefütterte Leibbinde | —* —*— — — — — — — — |

XIX. Experiment, ausgeführt am 15. Februar 1902.

Schmutzige Kleidungsstücke wie gewöhnlich.

Mittels der Pumpe Igea wurden 2000 ccm Formalin, mit 3000 ccm Wasser versetzt, nebulisiert.

Rotation 1 Stunde lang.

Während die Außentemperatur 4°—6° C war, schwankte die Innentemperatur zwischen 55° und 60° C. Nach der Rotation nahm die Temperatur langsam ab; nach Verlauf von 10 Stunden war sie noch 18° C und wurde der Stab nochmals ½ Stunde lang rotiert.

Nach 20 Stunden war die Innentemperatur 10° C, Rotation ½ Stunde lang.

Nach 24 Stunden Sammlung des Materiales.

Ausgang des XIX. Experiments.

5. März. Untersuchung der Kulturen.

Die Zahl der angelegten Bouillonkulturen belief sich auf 64 und es wurden dazu Stücke von sehr dichten und bis zu 6 Lagen zusammengenähten Tuchen (Ueberrock, Unterjacke, Flanellhemd, wollene Strümpfe, Hosen, Leibbinde, Rock u. s. w.) verwendet. Alle Kulturen blieben steril, ausgenommen zwei: in einer von diesen wuchsen Bakterien, in der anderen Hyphomyceten.

XX. Experiment, ausgeführt am 3. März 1902.

Fast identisch mit dem XIX. Experiment.

Mittels des im Raume gelassenen Lambrechtschen Polymeters wurde konstatiert, daß die relative Feuchtigkeit zu Anfang des Experimentes (Temperatur 55°—60° C) 25 Proz. und zu Ende desselben (nach 24 Stunden) 95 Proz. war.

Ausgang des XX. Experimentes.

24. März. Untersuchung der Kulturen.

Es wurden 44 Bouillonkulturen angelegt, einige davon mit Stücken von zu 10—12 Lagen zusammengenähten Tuchen, Pelzwerk u. s. w. Alle blieben steril.

XXI. Experiment, ausgeführt am 22. März 1902.

Wiederholung des XX. Experimentes.

Ausgang des XXI. Experimentes.

10. April. Untersuchung der Kulturen.

64 Kulturen wurden angelegt: in 4 wuchsen Bakterien, alle übrigen blieben steril.

XXII. Experiment, ausgeführt am 7. April 1902.

Identisch mit dem XXI. Experiment.

Ausgang des XXII. Experimentes.

20. April. Untersuchung der Kulturen.

77 Kulturen wurden angelegt: in 2 wuchsen Bakterien, in 1 Hyphomyceten.

### Resumé des XVIII.—XXII. Experimentes.

Aus den Resultaten dieser 5 Experimente läßt sich schließen, daß 2 l 40-proz., mit 3 l Wasser verdünnten Formalins, in einem 15 cbm fassenden Raume bei einer Temperatur von 55—60° C und einem relativen Feuchtigkeitsgehalt von 95 Proz. nebulisiert, zur sicheren Sterilisation sehr schmutziger und dicker Kleidungsstücke ausreichen, wenn diese zu wiederholten Malen und zwar jedesmal 2 Stunden lang in Rotation versetzt werden, so daß das aus dem nebulisierten Formalin entstehende gasförmige Formaldehyd gut in sie eindringen kann.

### Schluß.

Auf Grund dieser Resultate wird in der Turiner Desinfektionsanstalt die Sterilisation mancher infizierter Gegenstände nunmehr regelmäßig mittels Formaldehyds ausgeführt. Solche Gegenstände sind namentlich Pelzwerk, Frauenhüte, Schleier, Frauenkleider aus sehr zarten Stoffen, gewisse Vorhänge und Draperieen, die durch den Wasserdampf beschädigt werden würden, Papiere, Zimmerschmucksachen, Photographieen, künstliche Blumen u. s. w.

Die Auswahl der mit Formaldehyd statt mit Wasserdampf oder Sublimat zu desinfizierenden Gegenstände geschieht unter direkter Ueberwachung des die Desinfektionen beaufsichtigenden Arztes.

## III. Das Formaldehyd zur Desinfektion von Wohnräumen.

In diesem III. Teile unserer Arbeit werden wir, immer auf Grund von Experimenten und so objektiv wie möglich die so lebhaft erörterte Frage behandeln, ob sich das Formaldehyd zur Desinfektion infizierter Wohnräume verwenden lasse.

Vor allem wollen wir jedoch dartun, daß die gegen uns erhobene Anklage, wir seien von vornherein gegen das Formaldehyd eingenommen, eine ungerechte ist. Unsere drei früheren Arbeiten und auch die vorliegende bezeugen, daß wir diesem Gas das hohe Desinfektionsvermögen zuerkannten, das zahlreiche Autoren vor uns ihm beigemessen hatten: aber wir wollten eben die Experimente anderer nachprüfen und nicht in verbo magistri schwören; wir wollten vor allem den größten Nutzen aus diesem starken Desinfiziens ziehen, es dort anwendend, wo es sich anwenden läßt, wie dies die in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Experimente am besten beweisen.

Der stärkste Verfechter der Anwendung des Formaldehyds zur Desinfektion von Wohnräumen ist zur Zeit Flügge, und eben auf seine Autorität stützen sich viele, die für das Formaldehyd eingenommen sind; wir tun also wohl am besten, wenn wir uns an die Arbeit Flügges[1]) halten und deren hervorragendste Punkte erörtern.

Der berühmte Breslauer Hygieniker wird uns dies gestatten, da wir es nicht aus Neigung zu nutzloser Polemik tun, sondern mit Rücksicht auf die Resultate der aus Gewissenhaftigkeit von uns ausgeführten Experimente, die übrigens von jedem, der dazu Lust hat, nachgeprüft werden können.

1) Klinisches Jahrbuch. 1900. VII.

Flügge hält unsere Forderung, als gutes Desinfektionsmittel nur ein solches gelten zu lassen, das bei den Laboratoriums- und Präliminarversuchen gezeigt hat, daß es die Gegenstände im wahren Sinne des Wortes sterilisiert, für einen bedeutenden Rückschritt.

Wir dagegen meinen, daß unsere Forderung nicht nur keinen Rückschritt, sondern einen Fortschritt im öffentlichen Desinfektionsdienst bedeute, denn durch diese Strenge ist es vor allem gelungen, uns ipso facto eine Menge von Desinfizientien vom Halse zu schaffen, die diesen Namen gar nicht verdienen und die von beflissenen Handelsfirmen tagtäglich unter mehr oder weniger seltsamen Namen in den Handel gebracht werden.

In der Tat hat dieser Rigorismus die Zahl der wirklichen Desinfizientien bedeutend vermindert, so daß man sagen kann, auf dem Gebiete der öffentlichen Desinfektionen, als Kampfmittel gegen die Infektionskrankheiten, sind es zur Zeit nur drei Desinfektionsmittel, auf die man allgemein mit Sicherheit sich verläßt, nämlich der Wasserdampf, das Aetzsublimat, und das Formaldehyd.

Wenn wir nun unseren Rigorismus bis zur Forderung treiben, daß bei den Laboratoriumsversuchen die günstigen Resultate sich fast dem Absoluten nähern, so geschieht dies deshalb, weil die tägliche Praxis uns lehrt, daß zwischen den von Sachverständigen im Laboratorium ausgeführten Experimenten und den von den Desinfekteuren bei deren Anwendung in der Praxis vorgenommenen ein großer Abstand ist.

Kurz und gut, wie beim Militär zur Friedenszeit hundert Dinge von den Soldaten verlangt werden, um zur Kriegszeit zehn zu erlangen, verlangen wir von den Desinfizientien viel im Laboratorium, um etwas bei der praktischen Anwendung zu erhalten.

Und dieser Anschauung huldigt auch Flügge dermaßen, daß er mit seiner „Breslauer Methode“ ein fast automatisches Verfahren für die öffentlichen Desinfektionen zu liefern suchte, d. h. ein solches, das in der Praxis die gleichen Resultate gebe, die vom technischen Experimentator im Laboratorium erhalten wurden.

Hätten die Handelshäuser, die das Formaldehyd mit den bezüglichen formogenen Apparaten zuerst in den Handel brachten, nicht aus dem Formaldehyd ein Desinfektionsmittel omnibus zu machen gesucht und wären sie in diesem Feldzug nicht von für alles Neue eingenommenen Experimentatoren unterstützt worden, so wäre die Formaldehydfrage schon längst gelöst.

Man kann uns also nicht des Rückschritts bezichtigen, wenn wir dahin zu wirken suchten, daß auf dem Gebiete der Desinfektionen die Vorschriften von den sachverständigen Technikern und nicht von den Handelshäusern gemacht würden [1]).

Flügge stellt in seiner Arbeit die Theorie von der Spezifizität der Desinfektionen auf, nach welcher bei jeder Infektion eine besondere Desinfektionsmethode oder doch ein bestimmtes Desinfektionsmittel anzuwenden wäre, nämlich dasjenige, gegen welches der betreffende spezifische Keim sich am empfindlichsten gezeigt hat.

Wenn dies nun in der chirurgischen Praxis von Nutzen sein kann, sehen wir doch nicht ein, wie sich das bei den öffentlichen Desinfektionen

1) Daß es zum großen Teil Handelshäuser waren, die das Formaldehyd zu den öffentlichen Desinfektionen aufdrängten, geht daraus hervor, daß diese Handelshäuser sich für gewöhnlich nicht mit der Herstellung von Desinfektionsapparaten abgeben, sondern nur chemische Produkte und darunter auch Formaldehyd liefern und daß sie, um dieses letztere abzusetzen, eigene Apparate ersinnen und herstellen mußten, die sie dann zu ganz billigem Preise in den Handel brachten.

ausführen lasse, zu denen es, wie auch Flügge selbst meint, einer einfachen, gleichartigen, automatischen Methode bedarf.

Es muß durchaus berücksichtigt werden, das die materielle Ausführung der Desinfektionen einem meistens wenig sachkundigen Personal anvertraut ist, das über die Natur der Infektionen und die zu deren Bekämpfung geeignetste Methode keine genauen Nachforschungen anzustellen, sondern blind zu befolgen hat, was ihm von den Vorgesetzten befohlen wird.

Wenn nun die Desinfektionsanstalt einer großen Stadt einen leitenden Arzt mit einer ihm zu Diensten stehenden Schwadron Desinfekteure und eine Dotation haben kann, die den Gebrauch mehrerer Infektionsmittel (angenommen, es fände sich eines für jede Infektion) und mehrerer Apparate gestattet, so ist dies doch in kleinen Städten und in Flecken nicht möglich, wo das Desinfektionspersonal aus finanziellen Gründen auf einen einzigen, noch mit anderen Verrichtungen belasteten Mann beschränkt sein kann.

Wir wissen nicht, ob in Deutschland jede Gemeinde eine Desinfektionsansalt hat oder eine solche doch wenigstens auf jede Gruppe von aneinandergrenzenden Gemeinden kommt; wir wissen nicht, ob jede Desinfektionsanstalt ein ausreichendes gut geschultes Personal sowie ein genügendes Despositum von Apparaten und Desinfizientien hat; das wissen wir aber, daß in Italien, wenn man die Provinzialstädte und mehrere Kreisstädte ausnimmt, die ungeheuere Mehrzahl der Gemeinden keinen ernstlich betriebenen Desinfektionsdienst hat und keinen einrichten wird, wenn wir den Vorstehern nicht den Weg ebnen, indem wir zeigen, daß zum Desinfektionsdienst wenig Personal, wenig Gerät und wenige Desinfektionsmittel erforderlich sind, daß er im ganzen geringe Unkosten verursacht.

Statt also die Flüggesche Theorie von der Spezifizität anzuwenden, sollte vielmehr, wenn es möglich wäre, alles auf ein einziges Desinfektionsmittel und auf eine einzige Desinfektionsmethode beschränkt werden.

Unter den Einwänden, die wir in unseren früheren Arbeiten gegen den Gebrauch des Formaldehyds erhoben, ist auch dieser, daß es zur Vernichtung von Keimen angewendet werden sollte, die uns nicht nur in ihrem Wesen (Pocken, Scharlach, Masern) unbekannt sind, sondern deren Widerstandsfähigkeit gegen die Desinfizientien im allgemeinen wir nicht einmal kennen, und daß es uns also gefährlich schien, zu deren Vernichtung ein nicht immer sicher wirkendes Desinfektionsmittel, wie es das Formaldehyd ist, vorzuschlagen.

Flügge erwidert uns, daß in Deutschland die Pocken sehr selten sind und daß er im Kreise Breslau, obgleich derselbe der Pockenansteckung mehr ausgesetzt ist als andere Kreise, in zwei Jahren keine Gelegenheit hatte, die Wirkung des Formaldehyds auf diese Infektion zu erproben.

Nunwohl, dies gereicht Deutschland zur Ehre, das durch strenge Anwendung des Impfgesetzes die Pocken zu besiegen verstanden hat; das Gleiche können jedoch wir Italiener nicht sagen, die wir vergangenes Jahr plötzlich über 16000 Pockenfälle zu registrieren hatten, wovon 11000 in einer einzigen Provinz (Avellino).

Was den Scharlach anbetrifft, meint Flügge, daß dieses Virus nicht sehr zäh sei, sonst müßten die Fälle häufiger sein und bezüglich der Masern behauptet er, daß das Virus, weil flüchtiger, durch ein gasförmiges Desinfektionsmittel leichter geschädigt werde als durch ein flüssiges.

Eine größere Bedeutung legt er jedoch der Tatsache bei, daß dort, wo Desinfektionen vorgenommen werden, keine weiteren Fälle der Infektionskrankheit, deretwegen die Desinfektion vorgenommen worden war, auftreten. Aber wenn dieser Beweisgrund Geltung hat bezüglich des

Formaldehyds und einer nicht sehr großen Zahl von Flügge kontrollierter Fälle (60 Desinfektionen wegen Scharlachs, 6 wegen Masern, 257 wegen Diphtheritis), dürfte er mit noch größerem Recht auch bezüglich der mit Aetzsublimat ausgeführten Desinfektionen gelten, denn wir könnten nachweisen, daß hier in Turin, wo die Desinfektionen mit Sublimat zu tausenden vorgenommen werden, seit dem Jahre 1884 (in welchem die Choleraepidemie herrschte) die Fälle von Rezidiv einer Infektionskrankheit in einer desinfizierten Wohnung so selten sind, daß sie mit Bezug auf den Wert der angewendeten Desinfektionsmethode gar nicht in Betracht kommen.

Flügge hat an der Sublimatdesinfektionsmethode auszusetzen, daß sie nicht genügend automatisch, nicht unabhängig von dem Willen des die Desinfektion ausführenden Personals ist und daß deshalb durch einen Wechsel des Personals die Sorgfalt und Gewissenhaftigkeit in der Ausführung beeinträchtigt werden kann. Diese Befürchtung gilt jedoch für die Sublimat- wie für die Formaldehydmethode und für jede Methode überhaupt, denn wenn sich auch das Formaldehyd automatisch aus dem formogenen Apparat entwickelt, darf das Personal nur etwas weniger Formalin in den Apparat oder etwas weniger Alkohol in die Lampe tun oder Türen und Fenster des Raumes zu bald öffnen, um die Wirkungsbedingungen des Desinfektionsmittels zu verändern.

Den Vorwurf eines „unbegreiflichen Fanatismus“, den Flügge uns Anhängern alter Systeme macht, könnten wir also gegen die Anhänger der modernen Systeme zurückwenden, mit dem Unterschiede, daß wir uns von einer mehr als zehnjährigen Praxis gestützt fühlen, während unsere Gegner noch das Bedürfnis, ihre Methode zu rechtfertigen, fühlen.

Zum Schlusse kommend, empfiehlt Flügge, zur Desinfektion eines leeren Raumes $2^1/_2$ g Formaldehyd pro 1 cbm anzuwenden und die Einwirkungsdauer auf 7 Stunden zu bemessen, und zur Desinfektion eines möblierten Raumes 5 g pro 1 cbm bei einer Einwirkungsdauer von mindestens $3^1/_2$ Stunden.

Bedenkt man, daß bei Desinfektion mittels Sublimats die Operation nicht länger als eine Stunde dauert und daß der Bewohner des zu desinfizierenden Raumes während der Operation in demselben verbleiben kann, wenn er nur einen Raum zur Wohnung hat, wie das bei den ärmeren Klassen häufig der Fall ist, so wird man zugeben müssen, daß ceteris paribus die Sublimatmethode der Formaldehydmethode gegenüber einen Vorzug hat.

In Fällen von Krankheiten, die das Eindringen der Auswürfe in die Betten zur Folge hatten, empfiehlt übrigens der gleiche Autor, der Desinfektion mittelst Formaldehyds die mittelst Wasserdampfs hinzuzugesellen oder auch vom Formaldehyd ganz abzusehen und nur Wasserdampf anzuwenden.

Unserer Meinung nach hat der Wasserdampf unter Druck eine so sichere Wirkung, daß wenn man auch ein Desinfektionsmittel entdeckte, das 10mal stärker wirkte als das Formaldehyd und das Sublimat, ihm doch nie der Vorzug gegeben werden dürfte; die Desinfektion der Betten und des Bettzeugs, mögen sie von Auswürfen verunreinigt sein oder nicht, mögen diese tief in sie eingedrungen sein oder nicht, muß immer und ausschließlich mittelst komprimierten Wasserdampfes geschehen.

Was drittens die von dichten Sputumschichten verunreinigten oder merklich beschmutzten Wände und Fußböden, die Taschentücher, Wäsche u. s. w. anbetrifft, empfiehlt Flügge dieselben mit Desinfektionslösungen (Sublimat, Karbolsäure u. s. w.) apart zu behandeln.

Um den Automatismus der Formaldehydmethode ist es aber geschehen, wenn man zugibt, daß in gewissen Fällen das Formaldehyd durch

Sublimat ersetzt werden muß; auch ist nicht daran zu denken, die Beurteilung, ob Sublimat oder Formaldehyd anzuwenden ist, einem wenig sachkundigen Personal, wie es die Desinfekteure sind, zu überlassen. Es bedarf also immer des wachsamen Auges eines technischen Leiters, der zu beurteilen vermag, wo Formaldehyd angewendet werden kann und wo die Desinfektion mit Sublimat zu vervollständigen ist.

Und gibt man zu, daß das Sublimat wegen seiner größeren Wirksamkeit geeignet ist, die Formaldehyddesinfektion zu vervollständigen, warum soll man nicht Sublimat allein an allen Stellen des Raumes anwenden, ohne deren mehr oder weniger sichtbare Infektion erst abzuwägen?

Es ist in der Tat unbegreiflich, warum die Verfechter des Formaldehyds hartnäckig auf die Anwendung eines schwachen und zuweilen unzuverlässigen Desinfektionsmittels bestehen, um dann von einem anderen Hilfe zu verlangen, das sie, obgleich sie seine außerordentlichen Vorzüge anerkennen, entthronen wollen!

Zudem hat der Einwurf Flügges, daß die Wirkung des Sublimats, besonders an Wänden, eine zu flüchtige sei, heutzutage keine Gültigkeit mehr; denn die im ersten Teile der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Experimente tun dar, das bei Anwendung einer 10-prom. Sublimatlösung die Wände, die, weil vertikal, eine flüchtigere Einwirkung erfahren, ebensogut sterilisiert werden wie der Fußboden, auf welchen das Desinfektionsmittel immer länger einwirken kann.

Hier sei bemerkt, daß das Formaldehyd, da es ein sehr leichtes Gas ist, die Neigung zu steigen hat und deshalb automatisch am meisten auf die am wenigsten infizierte Decke des Raumes wirkt, während es fast keine Wirkung auf den am meisten beschmutzten Fußboden ausübt, der deshalb, wie auch die Verfechter des Formaldehyds zugeben, immer mit Sublimat desinfiziert werden muß.

Den Nachweis, daß das Formaldehyd mehr auf die höheren Teile des Raumes wirkt und dadurch die Desinfektion der unteren beeinträchtigt wird, werden wir weiter unten liefern; die Erscheinung wurde übrigens auch von Mayer und Wolpert[1]) konstatiert, welche Forscher beobachteten, daß die Desinfektion gleichmäßiger zustande kommt, wenn in der Mitte des Raumes ein Ventilator aufgestellt wird, der die Luft stark bewegt, was die Desinfektion des Fußbodens, der Winkel etc. begünstigt.

Hiervon überzeugt, empfahlen Fournier[2]) und De Rechter[2]) zwei Apparate, über deren Anwendbarkeit sich streiten läßt, die jedoch eine Bewegung der Luft während der Desinfektion hervorzurufen bezwecken.

Einer der Schüler Flügges, Steinitz, der ganz besonders zur Verbreitung der Anschauung beitrug, daß zur Desinfektion von Räumen die Formaldehydmethode allen anderen Methoden vorzuziehen sei, spricht sich übrigens in seiner Arbeit[4]) auch dahin aus, daß zur Vernichtung der Tuberkelbacillen in den an den Wänden angetrockneten Sputa das Formaldehyd nicht ausreicht und deshalb in solchen Fällen zur Vervollständigung der Desinfektion an den sichtbar beschmutzten Stellen eine 2-prom. Sublimatlösung[5]) anzuwenden sei.

---

1) Hygienische Rundschau. 1901.

2) Atti del Congresso internazionale d'igiene e demografia (7a Sezione). Paris 1900. seduta 17 Agosto.

3) Mouvement hygiénique, Juillet-Août 1901, und: Dr. E. Imbeaux, L'alimentation en eau et l'assainissement des villes. Paris 1902. II Vol. p. 886.

4) Zeitschr. f. Hygiene. Vol. XXXVIII. 1901.

5) Ottolenghi (Rivista d'igiene e sanità 1902. p. 45) hat, auf die Arbeit Steinitz eingehend, die Unzulänglichkeit einer 2-prom. Sublimatlösung nachgewiesen; aus seinen Experimenten kommt er zu dem Schlusse, daß zur Desinfektion der Sputa von Schwindsüchtigen eine mindestens 5-prom. Sublimatlösung erforderlich ist.

Aus der Arbeit Steinitz' geht auch hervor, daß unter anderen Sputa, die sich wenige Zentimeter über dem Fußboden an den Wänden befinden, durch das Formaldehyd nicht sterilisiert werden. In solchen Fällen nun bleibt die Wirkung des Formaldehyds offenbar schon deshalb aus, weil dieses, wie wir sagten, nach oben strebt und also auf die auf dem Fußboden und an den unteren Teilen der Wände (die immer am meisten beschmutzt sind) befindlichen Keime nicht wirken kann.

Zu der Arbeit Flügges zurückkehrend, bemerken wir, daß dieser zum Schlusse eine, wie uns erscheint, etwas gefährliche Theorie aufstellt: daß nämlich bei vielen Krankheiten die Desinfektion, mit welchem Mittel sie auch vorgenommen werde, eine überflüssige Operation sei und daß z. B. bei Diphtheritis (wie dies Experimente, mit denen er noch in seinem Laboratorium beschäftigt ist, dartun werden) die Desinfektion des Bettzeugs, der persönlichen Gebrauchsgegenstände, der Stühle, des Nachttisches und der im Umkreise des Bettes befindlichen Wand- und Fußbodenteile genügen könne.

Ist es nun schon, wie Ottolenghi[1]) richtig bemerkt, gefährlich, die sichtbar verunreinigten Stellen zur Desinfektion besonders aufzusuchen, wie es Steinitz empfiehlt, so scheint uns die Methode, die Desinfektion nur auf die Stellen im Umkreise des Bettes zu beschränken, noch gefährlicher.

Denn welchen Ausgang die Experimente Flügges auch haben mögen, wer wird in der Praxis behaupten können, daß bis zu einer gewissen Grenze um das Bett herum Infektionsgefahr bestehe und darüber hinaus keine?

Wer wird in einem Raume eine Stelle für mehr infiziert als eine andere erklären können, da man doch, den Fall von angetrockneten Auswürfen ausgenommen, nichts wahrnimmt, was auf eine stattgehabte Infektion hindeutete?

Unserer Meinung nach muß, wenn in einem Zimmer jemand an einer Infektionskrankheit darniederlag oder starb, das ganze Zimmer für infiziert gehalten werden und nicht bloß bestimmte Teile desselben, und demgemäß muß man außer den Wänden und dem Fußboden auch alles, was im Zimmer sich befindet, skrupullös einer energischen Desinfektion unterwerfen. Und nicht nur dies, sondern auch die anstoßenden Zimmer sind in besondere Berücksichtigung zu ziehen und mitunter, wenn der Verdacht einer verschleppten Infektion durch Personen, die den Kranken pflegten, vorliegt, müssen auch diese Räume desinfiziert werden; ebenso natürlich der Aufbewahrungsort der vom Patienten gewechselten Wäsche, der Abtritt u. s. w.

Alles dies nun läßt sich mit dem Formaldehyd nicht bewirken, wohl aber mittelst Sublimatbesprengungen, wenn man dazu eine konzentrierte, als wirksam erkannte Sublimatlösung verwendet.

Endlich ist, besonders in nördlichen Gegenden, die Frage von der Temperatur der Räume nicht gleichgültig.

Unsere Experimente und die anderer taten dar, daß das Formaldehyd um so rascher wirkt, je höher die Temperatur des zu desinfizierenden Raumes ist.

Schloßmann[2]) empfahl, die Räume während der Desinfektion bis auf 25° C zu erwärmen, was jedoch, wie wir dartaten, in der Praxis mit außerordentlichen Schwierigkeiten verbunden ist.

Mayer und Wolpert behaupten, daß eine Temperatur von 25—30° C fast notwendig sei und daß, unter sonst gleichen Umständen,

1) l. cit.
2) Berl. klin. Wochenschr. 1898.

eine hohe Temperatur eine größere Bedeutung als der Feuchtigkeitsgehalt des Raumes habe; sie zeigten denn auch, daß bei einer Temperatur von 30° C und einem relativen Feuchtigkeitsgehalt von 40 Proz. bessere Resultate erzielt werden als bei einer Temperatur von 0° C und einer mit Wasserdampf gesättigten Luft.

Nach dieser Polemik kehren wir gern wieder zum experimentellen Teil unserer Arbeit zurück, um durch ein sehr deutlich sprechendes Experiment darzutun, daß das Formaldehyd, zur Desinfektion von Wohnräumen angewendet, keine so sicheren Resultate gibt wie das Sublimat.

Dieses Experiment wurde allerdings nicht in einem Wohnraum ausgeführt, nichtsdestoweniger tun dessen Resultate dar, daß das Formaldehyd ein Desinfektionsmittel ist, das seine Wirkung mehr in den höheren als in den unteren Teilen eines Raumes entfaltet und also am meisten auf den am wenigsten infizierten Teil, nämlich die Decke, wirkt.

Im Juni 1901 ersuchte eine Mailänder Firma einen von uns (Abba), festzustellen, ob rohes Roßhaar, das sie (da Wasserdampf nicht angewendet werden konnte) der Einwirkung von Formaldehyd unterwarf, als sterilisiert angesehen werden könne.

Die Operation wurde auf folgende Weise vorgenommen: In einem von Mauern eingeschlossenen, 5,40 m langen, 2,30 m breiten, 2,30 m hohen (also 28 cbm messenden) Raum wurden 130 in Holzrahmen eingespannte Metallnetze, auf denen die Roßhaarsträhnen ausgebreitet waren, übereinander gelagert.

Das Formaldehyd wurde vermittelst eines Trillatschen Autoklaven erzeugt, der etwa 1500 ccm Formochlorol enthielt, das in 18—20 Minuten verbraucht war; die Innentemperatur war in den ersten Stunden des Experiments 46—50° C.

Die Einwirkung des Formaldehyds dauerte länger als 38 Stunden, dennoch war, als der Raum geöffnet wurde, der Geruch unerträglich.

Mit 24 Roßhaarproben (wovon 12 den obersten, 12 den untersten Netzen entnommen waren) wurden Gelatineplattenkulturen angelegt, und zwar wurde für jede Kultur ca. $^1/_2$ g verwendet. Nunwohl, nach einer Inkubationsdauer von 2 Tagen hatten sich um die den oberen Netzen entnommenen Roßhaare herum im Durchschnitt 1540 Kolonieen entwickelt, um die den unteren Netzen entnommenen herum dagegen schon 8310.

Abgesehen von anderen von uns ausgeführten Experimenten, die bestätigten, daß das Formaldehyd verunreinigten Gegenständen gegenüber eine beschränkte bakterienschädigende Wirkung entfaltet, tut dieses Experiment ganz deutlich dar, daß das Formaldehyd, wenn es im Raume nicht in Bewegung gesetzt wird, nach oben strebt und hier am meisten wirkt.

### **XXIII. Experiment,** ausgeführt am 14. Mai 1902.

Wir wollten jedoch den Versuch in der Praxis wiederholen und versuchten ein nicht sehr großes Zimmer, wie solches beim Infektionsdienste alle Tage angetroffen werden kann, zu desinfizieren.

Das Zimmer hat einen Umfang von 30 cbm (3×2,50×4 cbm Höhe) und enthielt ein kleines Klappbett, einen Schrank und zwei Stühle; es hatte zwei Fenster und eine Türe.

Die Temperatur des Zimmers war 15° C.

Nachdem wir hier und dort einige Kleidungsstücke zur Entnahme von Proben aufgehängt und Tür und Fenster hermetisch verschlossen hatten, steckten wir durch ein an einem der Fenster vorhandenes Schubfenster den Spritzkolben der Pumpe „Igea“ hinein und nebulisierten im Innern des Zimmers den Inhalt der Pumpe, nämlich 2 l Formalin, verdünnt mit 4 l Wasser.

Da das gewöhnliche im Handel vorkommende Formalin 40 Proz Formaldehyd enthält, führten wir bei diesem Experiment 800 g von letzterem ein, und da das Zimmer 30 cbm maß, nebulisierten wir mehr als 26 g Formaldehyd pro 1 cbm also mehr als das Fünffache der von Flügge für möblierte Räume vorgeschriebenen Dosis und viel mehr als er für Fälle von hochgradiger Infektion oder Verunreinigung vorschreibt [1]).

Außerdem ließen wir das Formaldehyd, statt 3 1/2 Stunden, 30 Stunden lang einwirken; nach Ablauf dieser Zeit neutralisierten wir das Formaldehyd mit Ammoniak und sammelten die Versuchsproben.

Die mit denselben angelegten Kulturen wurden im Brütschrank bei 37° C gehalten und nach 10 Tagen untersucht. Der Ausgang des Experiments war folgender:

a) Mittelst eines mit steriler Bouillon durchtränkten Wattebausches (Zenoni) direkt von den Wänden entnommener Staub:

| | positive Kult. | negative Kult. |
|---|---|---|
| 50 cm über dem Fußboden | 18 | 2 |
| 50 cm unterhalb der Decke | 5 | 8 |
| direkt von der Decke | 3 | 8 |
| insgesamt | 26 | 18 |

b) Proben von den verschiedenen in verschiedener Höhe aufgehängten Kleidungsstücken:

| | positive Kult. | negative Kult. |
|---|---|---|
| dickes gestricktes Korsett | 0 | 11 |
| weißes Baumwollenzeug | 0 | 11 |
| in drei Doppellagen zusammengenähtes Baumwollenkleid | 0 | 10 |
| Kattun in einfacher Lage | 4 | 6 |
| weitmaschiger wollener Shawl | 0 | 12 |
| Wollenzeug in einfacher Lage | 9 | 0 |
| Seide von einem Regenschirm | 9 | 0 |
| in mehrfachen Lagen zusammengenähtes baumwollenes Hemd | 0 | 9 |
| Baumwollendrillich | — | 11 |
| insgesamt | 22 | 70 |

Dieses Experiment beweist, daß 50 cm über dem Fußboden die Wirkung des Formaldehyds gleich Null ist (18 positive Kulturen auf 20), während es 50 cm unterhalb der Decke etwas stärker, wenn auch nicht absolut und sicher wirkt, wie man bei der angewendeten Formaldehydmenge und der langen Einwirkungsdauer hätte hoffen können.

Was die Kleidungsstücke anbetrifft, beweist das Experiment, daß, wenn die Wirkung der Temperatur — wie wir sie in unserm Desinfektionslokal haben — fehlt und die Gegenstände nicht wie in jenem einer rotatorischen Bewegung unterworfen werden, die Zahl der nicht sterilisierten Proben zunimmt; ferner beweist es, daß das Formaldehyd sich nicht gleichmäßig im Raume verteilt, denn wir fanden einige sterilisierte Gewebe neben anderen, die nicht die geringste Wirkung vom Formaldehyd erfuhren.

Um nochmals darzutun, wie wenig sicher die Desinfektion mittelst Formaldehyds ist und daß sie stets durch die Desinfektion mittelst Sublimats — wenigstens was den Fußboden und die staubigsten Gegenstände anbetrifft — vervollständigt werden muß, teilen wir zum Schlusse noch zwei Experimente mit, die wir in der Weise ausführten, daß wir beim ersten das Zweifache und beim zweiten das Vierfache der von Flügge für Fälle von schwerer Infektion vorgeschriebenen Formaldehydmenge anwendeten und das Desinfiziens, statt 3 1/2 Stunden, 24 Stunden lang einwirken ließen.

---

1) In der zitierten Arbeit sagt Flügge, daß bei Anwesenheit von Keimen von unbekannter Resistenz die Formaldehyddose bis aufs Vierfache erhöht werden könne und daß diese Dose auch Gartenerde sterilisiere; in unserem Falle hätten wir also 20 g Formaldehyd pro 1 cbm anwenden müssen, während wir genau gesagt 26,6 g anwendeten.

### XXIV. Experiment, ausgeführt am 17. Juli 1902.

Schlafzimmer mit Möbeln. — Umfang 60 cbm. — Temperatur 25—28° C. — Es wurden 1500 ccm Formalin nebulisiert = 10 g Formaldehyd pro 1 cbm. — Einwirkungsdauer 24 Stunden.

| | positive Kult. | negative Kult. |
|---|---|---|
| Staub vom Fußboden | 10 | 0 |
| „ von den Wänden | 6 | 8 |
| „ von der Decke | 2 | 4 |
| „ von Bilderrahmen, Schränken, Bettstellen u. s. w. | 10 | 2 |
| insgesamt | 28 | 14 |

Negative Resultate 33 Proz.

### XXV. Experiment, ausgeführt am 18. Juli 1902.

Schlafzimmer mit Möbeln. — Umfang 70 cbm. — Temperatur 27—29° C. — Es wurden 3500 ccm Formalin nebulisiert = 20 g Formaldehyd pro 1 cbm. — Einwirkungsdauer 24 Stunden:

| | positive Kultur | negative Kultur |
|---|---|---|
| Staub vom Fußboden | 8 | 2 |
| „ von den Wänden | 6 | 14 |
| „ von der Decke | 2 | 7 |
| „ von Bilderrahmen u. s. w. | 5 | 3 |
| insgesamt | 21 | 26 |

Wenn es uns nach diesen und den vorher mitgeteilten Resultaten von nach den strengsten Regeln der Praxis ausgeführten Experimenten nicht gelingt, die Verfechter des Formaldehyds zu überzeugen, daß dessen Wirkung bei der Desinfektion von Räumen denn doch eine wenig zuverlässige ist und daß dagegen das Aetzsublimat, wenn in hoher Dose angewendet, rasch und sicher wirkt und also das volle Vertrauen verdient, das es so viele Jahre hindurch gehabt hat, werden wir uns nicht weiter abmühen, in der Gewißheit, daß diese Ueberzeugung sich von selbst Bahn brechen wird, sobald alle Arten von Suggestion, die bisher fast alle in Italien und im Auslande mit dem Formaldehyd angestellten Versuche umgaben, ihren Einfluß verlieren werden.

Wir fassen nun ohne weiteres unsere Ueberzeugungen betreffs der öffentlichen Desinfektionen in wenige Sätze zusammen:

1) Alle persönlichen Gebrauchsgegenstände sowie das Bettgerät, die Wäsche ausgenommen, müssen aus den infizierten Wohnungen nach der Desinfektionsanstalt geschafft und hier in den Oefen mittels komprimierten Wasserdampfes sterilisiert werden [1]).

2) Auch die Bücher können mittels Wasserdampfes sterilisiert werden [2]).

3) Die Wäsche ist zur Sterilisierung auf 2 Stunden in eine 2-prom. Aetzsublimatlösung zu legen.

4) Kleidungsstücke, besonders Frauenkleider, Pelzsachen, Papiere und im allgemeinen nicht staubige oder sehr verunreinigte, wenig umfangreiche und glatte, als Zierrat dienende Gegenstände sind in einem eigens dazu eingerichteten Lokale mittelst Formaldehyds zu sterilisieren, und

1) Wir gebrauchen hier ausdrücklich das Wort „sterilisieren“, denn die Desinfektion soll die absolute Sterilisation der Gegenstände, d. h. die Vernichtung aller in ihnen enthaltenen oder ihnen anhaftenden Keime zu erzielen suchen; sich mit einer „praktischen Desinfektion“, wie es Gorini will (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIX. 1901. p. 62), zu begnügen, d. h. mit einer relativen Desinfektion oder, was noch schlimmer, mit einer „Reinigung“, wie Dopter (Revue d'hygiène. 1902. p. 131) verlangt, scheint uns zu gefährlich.

Leider finden wir betreffs der öffentlichen Desinfektionen, wenn wir alles recht gut gemacht zu haben glauben, daß dies nur sehr relativ der Fall ist; die Erfahrung lehrt es uns alle Tage.

2) s. Abba, Sulla disinfezione dei libri. (Rivista d'igiene e sanità pubblica. 1900.)

zwar müssen dazu wenigstens 55 g Formaldehyd pro 1 cbm (ca. 135 g gewöhnlichen Formalins pro 1 cbm) nebulisiert werden, bei einer wenigstens 1 Stunde lang anhaltenden Temperatur von 55—60° C und einem Feuchtigkeitsgehalt von 95 Proz.; die Gegenstände müssen, mit Unterbrechungen, wenigstens 2 Stunden lang in rotierende Bewegung gesetzt werden.

5) Der Fußboden, die Wände, die Möbel und alle sonstigen Gegenstände, die durch das Sublimat keine Beschädigung erfahren, sind mit einer 10-proz. Aetzsublimatlösung reichlich zu berieseln oder zu waschen.

6) Gegenstände aus Metall können mit kochender Lauge (mit einer 2—3-proz. Natriumkarbonatlösung) gewaschen werden.

Die Gründe, weshalb wir noch das Formaldehyd für untauglich zur Desinfektion von Räumen halten, sind kurz folgende:

1) Unter den besten Verhältnissen, nämlich während des Sommers und in der starken Proportion von 20—26 g pro 1 cbm in einem mit Feuchtigkeit gesättigten Raume angewendet, gibt das Formaldehyd im allgemeinen nur ca. 50 Proz. positiver Resultate.

2) Die Desinfektion erfolgt nicht gleichmäßig an allen Stellen des Raumes.

3) Wo mit bloßem Auge wahrnehmbarer Staub vorhanden ist, erfolgt nur ausnahmsweise die Desinfektion; das Formaldehyd vermag also Fußböden, Bilderrahmen, Tür- und Fensterpfosten, Möbel u. s. w. nicht zu desinfizieren.

4) An den Wänden oder dem Fußboden angetrocknete Auswürfe werden nur selten desinfiziert.

5) Desinfektion des Fußbodens erfolgt fast nie, schon deshalb, weil das Formaldehyd nach oben strebt; infolgedessen desinfiziert es am besten die Decke und die höheren Teile der Wände, die fast immer am wenigsten infiziert sind.

6) Das Formaldehyd dringt in Betten und Matratzen nicht ein, weshalb diese stets mit komprimiertem Wasserdampfe desinfiziert werden müssen.

7) Zur Vervollständigung der mittelst Formaldehyds ausgeführten Desinfektionen müßten in jedem Falle der Fußboden, die am meisten verunreinigten Stellen des Raumes, der Aufbewahrungsort der infizierten Wäsche, der Abtritt u. s. w. mit Sublimat gewaschen werden.

8) Die Desinfektion mittelst Formaldehyds erheischt einen Zeitaufwand von mindestens 3—5 Stunden und ausgenommen die Fälle, wo eine energische Ventilation möglich ist, läßt sich das Zimmer wenige Stunden nach ausgeführter Infektion nicht bewohnen, auch wenn das Formaldehyd durch Ammoniak neutralisiert worden ist.

9) Durch die Desinfektion von Räumen mittelst Formaldehyds wird der Desinfektionsdienst nicht vereinfacht, sondern kompliziert; er muß aber einfach und einförmig sein, so daß er vom geschulten Personal durch blindes Befolgen der vom leitenden Arzte gegebenen Anordnungen verrichtet werden kann.

---

## Inhalt.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

# Inhaltsverzeichnis.

## I. Verzeichnis der in Band XXXIII enthaltenen Arbeiten.

## II. Namen- und Sachverzeichnis.

## III. Verzeichnis der Abbildungen.

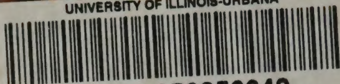


---

## Corrigendum.

Die auf p. 747 befindliche äußere Figur ist irrtümlich zu dieser Arbeit gesetzt und ist zu streichen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.


UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA
3 0112 056356642